

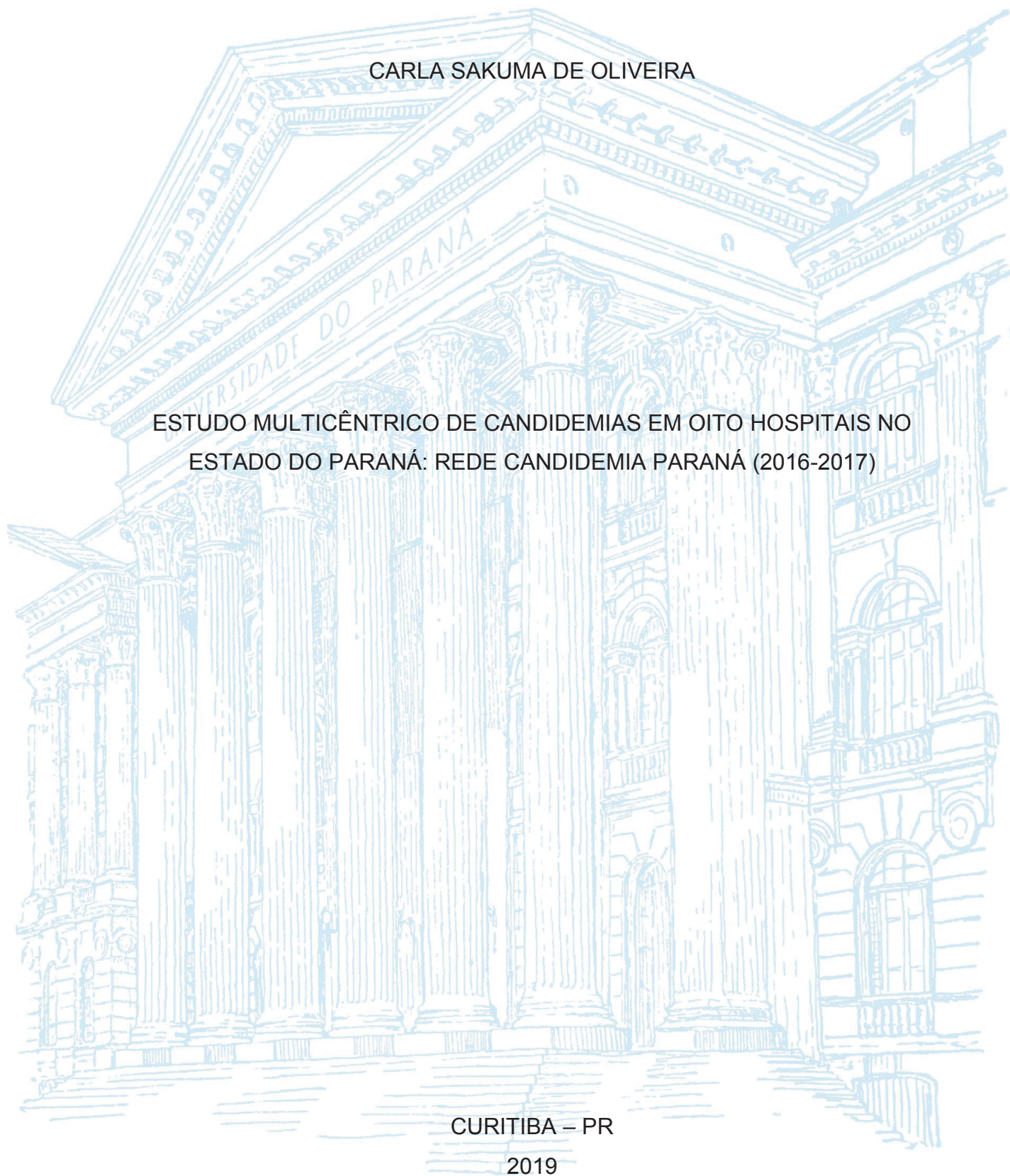
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CARLA SAKUMA DE OLIVEIRA

ESTUDO MULTICÊNTRICO DE CANDIDEMIAS EM OITO HOSPITAIS NO  
ESTADO DO PARANÁ: REDE CANDIDEMIA PARANÁ (2016-2017)

CURITIBA – PR

2019



CARLA SAKUMA DE OLIVEIRA

ESTUDO MULTICÊNTRICO DE CANDIDEMIAS EM OITO HOSPITAIS NO  
ESTADO DO PARANÁ: REDE CANDIDEMIA PARANÁ (2016-2017)

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Medicina Interna, Setor de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Medicina Interna.

Orientador: Prof. Dr. Flávio de Queiroz Telles Filho

CURITIBA – PR

2019

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

SAKUMA DE OLIVEIRA, CARLA  
ESTUDO MULTICÊNTRICO DE CANDIDEMIAS EM OITO HOSPITAIS  
NO PARANÁ (2016-2017) REDE CANDIDEMIA PARANÁ / CARLA  
SAKUMA DE OLIVEIRA; orientador (a), FLÁVIO DE QUEIROZ  
TELLES FILHO, 2019.

168 f.

Tese (doutorado), Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna, 2019.

1. CANDIDA. 2. CANDIDÍASE HEMATOGENICA. 3. INFECÇÃO DA CORRENTE SANGUÍNEA. 4. EPIDEMIOLOGIA PARANÁ. I. DE QUEIROZ TELLES FILHO, FLÁVIO. II. Título.

## TERMO DE APROVAÇÃO

CARLA SAKUMA DE OLIVEIRA

### ESTUDO MULTICÊNTRICO DE CANDIDEMIAS EM OITO HOSPITAIS NO ESTADO DO PARANÁ: REDE CANDIDEMIA PARANÁ (2016-2017)

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Medicina Interna, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Medicina Interna.



FLAVIO DE QUEIROZ TELLES FILHO

Presidente da Banca Examinadora

Departamento de Saúde Coletiva, Universidade Federal do Paraná – PR

Banca Examinadora:



KARIN REGINA LUHM  
Avaliador Externo (UFPR/PPGSC)



ARNALDO LOPES COLOMBO  
Avaliador Externo (UNIFESP)



FABIANNE ALTRUDA DE MORAES COSTA CARLESSE  
Avaliador Externo (UNIFESP)



MARISOL DOMINGUEZ MUÑOZ  
Avaliador Externo (UFPR/HC)

Curitiba, 28 de junho de 2019.

Dedico esta tese ao Dr. Silvio de Oliveira, meu pai e pediatra que me apresentou a Medicina, fez com que me apaixonasse por ela, me incentivou em todos os momentos da minha vida e que se orgulharia muito se ainda estivesse entre nós.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Flávio de Queiroz Telles Filho, pela orientação deste trabalho, por todas as oportunidades oferecidas e, principalmente, pela amizade construída desde o mestrado e com quem muito tenho aprendido.

Ao Prof. Dr. Arnaldo Lopes Colombo por todas as contribuições durante a realização deste projeto; meu profundo respeito e admiração eterna.

À Elaine Cristina Francisco, do Laboratório Especial de Micologia da UNIFESP por ter aceitado essa empreitada e contribuído com a realização da identificação dos fungos e testes de susceptibilidade.

À Larissa M. Favarello, do Laboratório Especial de Micologia da UNIFESP pela contribuição na realização dos testes de susceptibilidade aos antifúngicos.

Aos Prof. Dr. Márcio Nucci, da Universidade Federal do Rio de Janeiro e à Prof<sup>a</sup>. Solena Ziemer Kusma, do Departamento de Saúde Comunitária da UFPR pela contribuição na análise estatística desse estudo.

Ao colega e amigo, Dr. Marcello M. Magri, pelas contribuições, sugestões e revisão do texto.

Aos colegas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná: Prof. Rinaldo Ferreira Gandra, pela amizade e apoio incondicional na realização do preparo e armazenamento das cepas; e Dr. Ademar Dantas da Cunha Junior, pelo incentivo e contribuição na análise estatística.

Aos colegas dos centros colaboradores: Dr. Giovani Breda e Rosangela Lameira Pinheiro, do Hospital de Clínicas da UFPR; Dr. Hugo Paes Morales e Andrea Krelling, do Hospital Erasto Gaertner; Dr. César Helber, da Santa Casa de Maringá; Dr. Cláudia Maria Dantas de Maia Carrilho e Marsilene Pelisson, do Hospital Universitário Regional Norte de Londrina; Dra. Jamile Sardi Perosin, do Hospital do Câncer de Londrina; Dr. Thiago Giancursi e Dra. Nayra Valério, do Hospital Universitário do Oeste do Paraná; Dr. Gerson Czelusniak e Rejane Bittencourt, do Hospital Universitário dos Campos Gerais de Ponta Grossa;

Enfermeira Marisa Cristina Preifz de Carvalho, do Hospital do Câncer de Cascavel; e aos alunos de Medicina, Renan Petinelli, da Universidade Estadual de Londrina, e Mariana Nonaka Martins, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, pela valerosa coleta de dados clínicos e laboratoriais que subsidiaram esse estudo.

Aos meus alunos da Universidade Estadual do Oeste do Paraná e meus residentes do Hospital Universitário do Oeste do Paraná, que são meu incentivo diário pela busca do aperfeiçoamento profissional, e, em especial, ao meu aluno e amigo Bernardo de Lima, pela contribuição na coleta de dados, tabulação de resultados, revisão, formatação e incentivo em todas as etapas desse estudo.

Ao meu noivo, Carlos Eduardo de Arrais Ykeda Baptista pela compreensão e paciência durante estes anos de dedicação ao doutorado e pelo apoio incondicional na ajuda do transporte das cepas dos centros colaboradores até Cascavel.

À Dra. Zenyr Sakuma de Oliveira, minha mãe, médica, por seu exemplo de sabedoria e serenidade, pelo apoio e confiança e pela inquestionável contribuição na minha formação pessoal e profissional.

Aos meus irmãos, Dra. Danielle Sakuma de Oliveira Suzuki, Dra. Cinara Sakuma de Oliveira Godoy e Dr. Gilson Sakuma de Oliveira, por estarem sempre comigo. Meus exemplos de fraternidade e ética.

Aos meus filhos, Luiza Yumi e Yuji, pela compreensão durante minha ausência. Saibam que vivo por vocês e para vocês!

*A vida é um caminho longo, onde você é mestre e aluno;  
algumas vezes você ensina, e todos os dias você aprende.*

*Pedro Bial*



## RESUMO

A candidíase hematogênica, ou simplesmente candidemia, é um emergente problema de saúde mundial, especialmente em pacientes internados em Unidades de Terapia Intensiva (UTI). As taxas de incidência de candidemia variam geograficamente e de acordo com populações específicas, como pacientes imunodeprimidos, neonatos, e pacientes internados em UTI. Pouco se sabe sobre a candidemia no Estado do Paraná. Esse estudo teve como objetivo analisar o perfil epidemiológico, clínico e microbiológico em pacientes internados em oito hospitais no Estado do Paraná, localizados em cinco diferentes cidades, durante os anos de 2016 e 2017. Foi realizado coleta prospectiva de informações para determinação das características epidemiológicas, clínicas e microbiológicas dos episódios de candidemia ocorridos neste período. As informações clínicas e epidemiológicas foram obtidas através de revisão dos prontuários e preenchimento de ficha clínica padrão. Candidemia foi definida como pelo menos uma hemocultura positiva para espécies de *Candida* spp., depois de adequada antisepsia, sendo somente o primeiro episódio de candidemia considerado neste estudo. A caracterização microbiológica das cepas foi realizada em um único laboratório (LEMI-UNIFESP) através de métodos de referência garantindo a qualidade dos resultados. A sensibilidade dos isolados do estudo aos agentes antifúngicos foi realizada pelo método da microdiluição em caldo, de acordo com as normas do Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Todas as informações referentes aos pacientes foram armazenadas em banco de dados e os cálculos estatísticos foram realizados através do SPSS versão 25.0.0.0 e STATA versão 15.1. Análise dos primeiros 100 casos demonstrou incidência de 1,20/1000 admissões e uma taxa de 0,27/1000 pacientes-dia, semelhante a dados já publicados no Brasil e América Latina. A média de idade dos pacientes foi de 40 anos e 56% dos pacientes pertenciam ao gênero masculino. A mortalidade foi de 48%. A idade avançada foi um fator associado à mortalidade assim como a internação em UTI, refletindo a gravidade dos pacientes. Trinta e sete por cento das candidemias ocorreram na população onco-hematológica e explica-se pela baixa realização de profilaxia antifúngica. Oito espécies foram encontradas após identificação laboratorial: *C. albicans* (49%), *C. parapsilosis* (23%), *C. tropicalis* (15%), *C. glabrata* (4%), *C. krusei* (3%), *C. haemulonii* (3%), *C. metapsilosis* (2%) e *C. kefyr* (1%). Onze isolados foram identificados apenas através da biologia molecular. A remoção do cateter e o uso de antifúngicos previamente à candidemia incidente foram associados com melhor na sobrevida ( $p=0,029$  e  $p=0,033$ ) respectivamente. A resistência aos antifúngicos ainda não é uma preocupação no Estado do Paraná; entretanto, devido a espécies intrinsicamente resistentes a fluconazol, as equinocandinas parecem ser a melhor opção terapêutica empírica.

**Palavras-chave:** Candidemia. Infecção de Corrente Sanguínea. Infecção Hospitalar

## ABSTRACT

Hematogenic candidiasis, or simply candidemia, is an emerging worldwide health problem, especially in patients admitted to Intensive Care Units (ICUs). Incidence rates of candidemia vary geographically and according to specific populations, such as immunocompromised patients, neonates, and patients hospitalized in ICUs. Little is known about candidemia in the State of Paraná. This study aimed to analyze the epidemiological, clinical and microbiological profile of patients hospitalized in eight hospitals in the State of Paraná, located in five different cities during the years 2016 and 2017. Prospective informations were collected to determine the epidemiological, clinical and microbiological characteristics of the episodes of candidemia occurred in this period. The clinical and epidemiological information was obtained by reviewing the medical records and filling out of the standard clinical file. Candidaemia was defined as at least one blood culture positive for *Candida* spp. Species, after adequate antisepsis, being only the first episode of candidemia considered in this study. The microbiological characterization of the strains was carried out in a single laboratory (LEMI-UNIFESP) through reference methods guaranteeing the quality of the results. The sensitivity of the isolates from the study to the antifungal agents was determined by the broth microdilution method, according to the standards of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). All patient information was stored in a database and statistical calculations were performed using SPSS version 25.0.0.0 and STATA version 15.1. Analysis of the first 100 cases showed an incidence of 1.20 / 1000 admissions and a rate of 0.27 / 1000 patients, similar to a data already published in Brazil and Latin America. The mean age of the patients was 40 years and 56% of the patients belonged to the male gender. Mortality was 48%. Advanced age was a factor associated with mortality as well as ICU admission, reflecting the severity of the patients. Thirty-seven percent of candidemia occurred in the onco-hematological population and is explained by the low performance of antifungal prophylaxis. Eight species were found after laboratory identification: *C. albicans* (49%), *C. parapsilosis* (23%), *C. tropicalis* (15%), *C. glabrata* (4%), *C. krusei* (3%), *C. haemulonii* (3%), *C. metapsilosis* (2%) and *C. kefyr* (1%). Eleven isolates were identified only through molecular biology. Catheter removal and previous antifungal use were associated with better survival ( $p = 0.029$  and  $p = 0.033$ ), respectively. Antifungal resistance is not yet a concern in the state of Paraná; however, due to intrinsically fluconazole-resistant species, echinocandins appear to be the best empirical therapeutic option.

**Keywords:** Candidemia. Bloodstream Infection. Nosocomial Infection.

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – DISTRIBUIÇÃO DOS CASOS DE CANDIDEMIA POR CENTRO PARTICIPANTE DURANTE 2016 E 2017 .....	81
GRÁFICO 2 – DISTRIBUIÇÃO DO DIAGNÓSTICO DE CANDIDEMIA PELO SÍTIO DE COLETA DA HEMOCULTURA .....	86
GRÁFICO 3 – DISTRIBUIÇÃO DE ESPÉCIES DE <i>CANDIDA SPP</i> .CAUSADORAS DE CANDIDEMIA POR CENTRO HOSPITALAR .....	100
GRÁFICO 5 - AVALIAÇÃO DA SOBREVIDA DOS PACIENTES COM CANDIDEMIA E REMOÇÃO DO CATETER.....	102
GRÁFICO 6 - AVALIAÇÃO DA SOBREVIDA DOS PACIENTES COM CANDIDEMIA E USO PRÉVIO DE ANTIFÚNGICO.....	103
GRÁFICO 7 - ESTUDOS NACIONAIS E DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE <i>Candida</i> spp ASSOCIADAS A EPISÓDIOS DE CANDIDEMIA.....	113

## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – FATORES DE RISCO PARA CANDIDÍASE INVASIVA EM ADULTOS E CRIANÇAS .....	33
QUADRO 2 – FATORES DE RISCO PARA CANDIDEMIA ASSOCIADOS ÀS CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO .....	34
QUADRO 3 – FATORES DE RISCO ASSOCIADOS ÀS DIFERENTES ESPÉCIES DE <i>CANDIDA</i> spp.....	39
QUADRO 4 – PERFIL DE SENSIBILIDADE/ESPECIFICIDADE DOS ESCORES DE COLONIZAÇÃO POR <i>Candida</i> spp .....	40
QUADRO 5 – DESEMPENHO DOS EXAMES LABORATORIAIS NÃO-BASEADOS EM CULTURAS DE SANGUE PARA DIAGNÓSTICO DE CANDIDEMIA .....	45
QUADRO 6 – INCIDÊNCIA DE CANDIDEMIA EM DIVERSOS PAÍSES E DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA DAS ESPÉCIES .....	54
QUADRO 7 – INCIDÊNCIA DE CANDIDEMIA NA AMÉRICA LATINA E DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA DAS ESPÉCIES .....	61
QUADRO 8 – INCIDÊNCIA DE CANDIDEMIA NO BRASIL E DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA DAS ESPÉCIES.....	65
QUADRO 9 – HOSPITAIS PARTICIPANTES DO ESTUDO REDE CANDIDEMIA PARANÁ.....	70

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - DISTRIBUIÇÃO DOS CASOS DE CANDIDEMIA POR CENTRO PARTICIPANTE.....	80
TABELA 2 - INCIDÊNCIA GERAL DE CANDIDEMIA E INCIDÊNCIA POR PACIENTES-DIA.....	81
TABELA 3 - INCIDÊNCIA GERAL E INCIDÊNCIA POR 1000 PACIENTES-DIA.....	83
TABELA 4 - DISTRIBUIÇÕES DOS CASOS DE CANDIDEMIA POR SEXO, FAIXA ETÁRIA E RAÇA.....	83
TABELA 5 - APRESENTAÇÃO CLÍNICA E FATORES ASSOCIADOS PARA DESENVOLVIMENTO DE CANDIDEMIA .....	85
TABELA 6 - INFORMAÇÕES RELATIVAS SOBRE O CATETER INSERIDO NOS PACIENTES COM CANDIDEMIA.....	87
TABELA 7 - RELAÇÃO ENTRE A MANUTENÇÃO DO CATETER E O DESFECHO DOS PACIENTES COM CANDIDEMIA.....	88
TABELA 8 – DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DE <i>CANDIDA</i> SPP COM IDENTIFICAÇÃO DIVERGENTE POR CENTRO HOSPITALAR.....	89
TABELA 9 – SUSCEPTIBILIDADE AOS ANTIFÚNGICOS DOS 100 ISOLADOS DE CANDIDEMIA NO ESTADO DO PARANÁ.....	91
TABELA 10 – VALORES DE MIC DOS ISOLADOS DE <i>C. HAEMULONII</i> , <i>C. METAPSILOSIS</i> E <i>C. KEFYR</i> NO ESTADO DO PARANÁ .....	92
TABELA 11 - DISTRIBUIÇÃO DA ESCOLHA TERAPÊUTICA EMPREGADA.....	93
TABELA 12 - ASSOCIAÇÃO DO USO DE MEDICAMENTOS EMPREGADOS E MORTALIDADE ENTRE OS PACIENTES COM CANDIDEMIA.....	94
TABELA 13 - ASSOCIAÇÃO ENTRE TEMPO DO DIAGNÓSTICO E INÍCIO DO TRATAMENTO COM MORTALIDADE.....	90
TABELA 14 - USO DE ANTIFÚNGICO PRÉVIO A CANDIDEMIA.....	96
TABELA 15 - CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES COM CANDIDEMIA E DESFECHO CLÍNICO.....	97
TABELA 16 - COMPARAÇÃO DA CANDIDEMIA ENTRE GRUPO DE PACIENTES PEDIÁTRICOS E ADULTOS.....	98
TABELA 17- CARACTERIZAÇÃO DOS PACIENTES COM CANDIDEMIA POR <i>C. NÃO-ALBICANS</i> E <i>C. ALBICANS</i> .....	94
TABELA 18 - FATORES ASSOCIADOS E IMPACTO NA SOBREVIVÊNCIA .....	99

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

APACHE – Acute Physiology and Chronic Health Evaluation  
APGAR – American Pediatric Gross Assessment Record  
CDC – *Centers for Diseases Control and Prevention*  
CI – Candidíase Invasiva  
CLSI – *Clinical and laboratory Standards Institutes*  
CVC – Cateter Venoso Central  
DNA – Ácido Desoxirribonucleico  
FDA – *Food and Drug Administration*  
HCL – Hospital do Câncer de Londrina  
HC-UFPR – Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná  
HUCG – Hospital Universitário dos Campos Gerais  
HUOP – Hospital Universitário do Oeste do Paraná  
HURN – Hospital Universitário Regional Norte  
ICS – Infecção de Corrente Sanguínea  
ICSn – Infecção da Corrente Sanguínea Nosocomial  
IDSA – *Infectious Diseases Society of America*  
IFI – Infecção Fúngica Invasiva  
LEMI – Laboratório Especial de Micologia  
LLA – Leucemia Linfóide Aguda  
LLC – Leucemia Linfóide Crônica  
LMA – Leucemia Mielóide Aguda  
LMC – Leucemia Mielóide Crônica  
LNH – Linfoma Não-Hodgkin  
MALDI-TOF: do inglês, *Matrix-assisted laser desorption/ionization*  
MDR – Multidroga Resistente  
NEMIS – National Epidemiology of Mycoses Survey  
PCR – Reação em Cadeia de Polimerase  
PCR – Proteína C Reativa  
PCT – Pró-Calcitonina  
PICC – Cateter Central de Inserção Periférica  
SCOPE – *Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiologic Importance*  
SDD – Sensibilidade Dose-Dependente

SENTRY – Antimicrobial Surveillance Program Report

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SNC – Sistema Nervoso Central

T2RM – Ressonância Magnética T2

TCTH – Transplante de Células-tronco Hematopoiéticas

TMO – Transplante de Medula Óssea

UNIFESP – Universidade Federal de São Paulo

UOPECCAN – União Oeste Paranaense do Estado e Combate ao Câncer

UTI – Unidade de Terapia Intensiva

VPP – Valor Preditivo Positivo

VPN – Valor Preditivo Negativo

## DICIONÁRIO DE TERMOS

**APACHE II:** sistema médico de classificação que determina os índices de gravidade de um paciente internado em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Este índice é calculado a partir da soma de critérios clínicos, fisiológicos e laboratoriais que determinam a criticidade do quadro do paciente e o risco de óbito nas suas primeiras 24 horas de UTI.

**Breakpoint:** também chamado de ponto crítico, é a concentração de uma droga que alcança no soro, urina ou líquido cefaloraquidiano, após a administração do agente, com fins terapêuticos.

**Breakthrough candidemia:** “candidemia de escape”, quando essa infecção se desenvolve durante a terapia antifúngica sistêmica.

**Neutropenia:** diminuição do número absoluto de neutrófilos na corrente sanguínea. Valores inferiores a 1.500/ L, em pacientes brancos, e 1200/ L, em pacientes negros, são anormais. As neutropenias são classificadas como leves (1.500-1.000/ L), moderadas (1.000-500/ L) e graves (< 500/ L).

**Primers:** (*primers* em inglês) são segmentos de ácidos nucleicos, com 1 a 60 ribonucleotídeos necessários à iniciação da replicação do DNA.

**Valor preditivo positivo (VPP):** é a proporção de verdadeiros positivos entre todos os indivíduos com teste positivo. Expressa a probabilidade de um paciente com o teste positivo ter a doença.

**Valor preditivo negativo (VPN):** é a proporção de verdadeiros negativos entre todos os indivíduos com teste negativo.



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>21</b>
1.1 JUSTIFICATIVA .....	22
1.2 OBJETIVOS .....	23
1.2.1 Objetivo geral .....	23
1.2.2 Objetivos específicos.....	24
1.3 METODOLOGIA.....	24
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>25</b>
2.1 HISTÓRIA NATURAL.....	27
2.2 FATORES DE RISCO .....	28
2.3 FATORES PROGNÓSTICOS.....	34
2.4 AGENTES ETIOLÓGICOS DE CANDIDEMIA: IMPORTÂNCIA CLÍNICA DAS INFECÇÕES POR ESPÉCIES NÃO- <i>ALBICANS</i> .....	35
2.5 DIAGNÓSTICO .....	41
2.6 TRATAMENTO.....	45
2.7 PANORAMA MUNDIAL DA CANDIDEMIA .....	49
2.8 CANDIDEMIA NA AMÉRICA LATINA .....	59
2.9 CANDIDEMIA NO BRASIL.....	62
2.10 CANDIDEMIA NO ESTADO DO PARANÁ.....	66
2.11 MEDIDAS DE PROFILAXIA E PREVENÇÃO .....	67
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>69</b>
3.1 DESENHO DO ESTUDO .....	69
3.2 CARACTERIZAÇÃO DOS HOSPITAIS.....	69
3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	72
3.4 CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA E EPIDEMIOLÓGICA DOS PACIENTES .....	72
3.4.1 Informações demográficas .....	73
3.4.2 Informações microbiológicas .....	73
3.4.3 Informações sobre hospitalização .....	73
3.4.4 História médica pregressa .....	73
3.4.5 Informações neonatais .....	74
3.4.6. Informações clínicas.....	74
3.4.7 Informações sobre cateteres venosos em posição central.....	75

3.4.8 História de exposição a medicamentos .....	75
3.4.9 Informações sobre a evolução .....	75
3.5 CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS AMOSTRAS DE <i>CANDIDA SP</i>	76
3.6 Testes de susceptibilidade <i>in vitro</i> dos isoladas de candidas aos antifúngicos...	77
3.7 Análise dos resultados dos valores de concentrações inibitórias mínimas (CIMs) gerados com os 4 antifúngicos testados contra os isolados de <i>Candida</i> spp.....	78
3.8. Análise estatística do bando de dados .....	79
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>80</b>
4.1.Densidades de incidências.....	81
4.2 Características gerais da população .....	82
4.3 Apresentação clínica dos casos de candidemia e condições associadas a candidemia .....	83
4.4 Sítio de coleta das hemoculturas.....	86
4.5 Informações relacionadas a cateteres vasculares em posição central.....	86
4.6 Distribuição das espécies de <i>Candida</i> spp associadas aos episódios de candidemia .....	88
4.7 Resultados dos testes de susceptibilidade aos antifúngicos <i>in vitro</i> de <i>Candida</i> spp .....	90
4.8 Tratamento.....	92
4.9. Fatores associados para desenvolvimento de <i>C.albicans</i> e <i>C. não-albicans</i> ....	98
4.10 Análise da sobrevida .....	100
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>104</b>
5.1 INCIDÊNCIA.....	104
5.2 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO.....	104
5.3 FATORES ASSOCIADOS.....	107
5.4 DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES.....	112
5.5 DESFECHO .....	117
5.6 TRATAMENTO.....	119
5.7 LIMITAÇÕES.....	121
5.8 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	121
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>122</b>

<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>124</b>
<b>ANEXO I – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....</b>	<b>160</b>
<b>ANEXO II – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS .....</b>	<b>163</b>
<b>ANEXO III - METODOLOGIA PARA IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR.....</b>	<b>166</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Entre os fungos de interesse médico, as leveduras do gênero *Candida* são de grande importância devido a alta frequência de colonização e infecção nos seres humanos. São micro-organismos com características comensais que podem estar presentes na microbiota humana, em diversos sítios anatômicos, como pele, mucosa oral, trato gastrointestinal e geniturinário. Em condições normais, a maioria destes fungos não causa danos ao hospedeiro, mas em condições favoráveis, como imunossupressão, podem causar invasão dos tecidos e provocar infecções sistêmicas potencialmente fatais (PEREZ, 2013).

As infecções por *Candida* spp representam cerca de 80% do total de infecções fúngicas da corrente sanguínea, trato urinário e infecções de sítio cirúrgico (COLOMBO, 2013b).

Infecções da corrente sanguínea (ICS) por *Candida* spp são conhecidas, também, por candidemia e apontadas como a quarta causa de infecção da corrente sanguínea nosocomial no Brasil, apresentando significativa morbimortalidade e onerando substancialmente as internações hospitalares.

A incidência de candidemia nos hospitais brasileiros é de 1,38 episódios para cada 1.000 admissões (NUCCI, 2013a) com uma taxa de mortalidade chegando a 54% (COLOMBO, 2006). As condições clínicas mais frequentemente associadas são câncer, neutropenia, cirurgia (especialmente as abdominais), ventilação mecânica, diálise, nutrição parenteral e uso de cateteres centrais (COLOMBO, 2006).

No Brasil, a espécie *C. albicans* representa o agente causador das infecções na grande maioria das ICS, seguida de *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. glabrata* e *C. krusei* (NUCCI, 2013a).

As diferenças na epidemiologia e na abordagem terapêutica para diferentes espécies de *Candida* spp. justificam a necessidade da identificação da espécie causadora da doença. Essas informações são essenciais não somente para definição da terapêutica, como também para o controle de possíveis fontes de infecções hospitalares. A realização de testes de susceptibilidade constitui uma ferramenta necessária, nos dias atuais, para conhecimento do perfil de susceptibilidade às diferentes drogas antifúngicas nas mais diversas instituições hospitalares (COLOMBO, 2013b).

Não somente a morbimortalidade atribuída à infecção, mas os elevados custos com as candidemias em UTI chegam a ordem de 8.000 a 44.000 euros (ARENDRUP, 2010).

O presente estudo teve como objetivo verificar o perfil clínico, epidemiológico e laboratorial das candidemias em 8 hospitais no Estado do Paraná, no período compreendido entre janeiro de 2016 e dezembro de 2017.

## 1.1 JUSTIFICATIVA

As infecções por *Candida* spp se tornaram um grave problema de saúde pública em diferentes partes do mundo, sendo indiscutível a relevância de estudos epidemiológicos com intuito de alertar para o diagnóstico precoce, tratar as infecções adequadamente e melhorar a sobrevida dos pacientes acometidos. Este estudo contribuirá para ampliar o conhecimento da biodiversidade das infecções de corrente sanguínea por *Candida* spp no Estado do Paraná.

Várias são as condições associadas que levam à infecção. A candidemia é reconhecida por causar grande morbimortalidade no ambiente hospitalar e sua patogenicidade também está relacionada às diversas espécies já descritas na literatura (PAPPAS, 2016).

Desde 1980, vem ocorrendo um aumento explosivo nas taxas de infecções fúngicas em pacientes hospitalizados. De acordo com os resultados do *National Nosocomial Infections Surveillance System* (NNISS), realizado nos Estados Unidos da América (EUA), entre janeiro de 1980 e abril de 1990, foram notificadas 30.477 infecções fúngicas. A taxa foi de 2,0 a 3,8/1000 saídas, sendo os pacientes queimados e vítimas de traumas as populações mais acometidas (16,1%). *Candida albicans* foi o patógeno fúngico mais freqüentemente isolado (59,7%), seguido de outras espécies de *Candida* (18,6%). Os fungos estão emergindo como importantes patógenos nosocomiais desde a década de 80 e os esforços de controle devem se direcionar para maior atenção às infecções fúngicas, especialmente à fungemia (BECK-SAGUÉ, 1993).

Preocupação crescente com isolados de *Candida* MDR ao longo dos últimos anos tem sido relatada por diversos autores. Colombo e cols chamam atenção para *C. auris* e *C. glabrata*. Isolados de *C. auris* foram relatados em 15 países e as taxas de resistência a múltiplas drogas geralmente são superiores a 30%. A transmissão

horizontal é uma preocupação relevante em relação à *C. auris*. *C. glabrata* é a segunda espécie mais relatada. Isolados do complexo *Candida haemulonii* com baixa suscetibilidade a azóis e anfotericina B foram isolados em infecções superficiais e profundas, enquanto isolados de complexos de *Candida guilliermondii* com baixa suscetibilidade a azóis e equinocandinas também foram recuperados de infecções de corrente sanguínea relacionadas a cateteres. Outras espécies, com potencial surgimento de multi-resistência, são *Candida krusei*, *Candida lusitanae*, *Candida kefyr*, *Yarrowia (Candida) lipolytica* e *Candida rugosa* (COLOMBO, 2017).

Vários autores têm contribuído para a discussão da importância das fungemias em hospitais terciários de diferentes regiões do mundo, realizando estudos de vigilância com monitorização de diversos centros sentinelas. Estes estudos são relevantes para o reconhecimento de importantes informações sobre a epidemiologia destas infecções e de suas peculiaridades regionais. A grande maioria destes estudos é norte-americana e são estudos de vigilância ativa, prospectivos e baseados em população, como os estudos conduzidos pelo Centers for Diseases Control and Prevention (CDC), do National Epidemiology of Mycoses Survey (NEMIS), do Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiologic Importance (SCOPE) e do SENTRY (*Antimicrobial Surveillance Program*) (MARRA, 2011; SADER, 2004).

A mortalidade atribuída à candidemia em vários estudos varia de 5-71%. Em uma revisão sistemática realizada por Falagas concluiu-se que a mortalidade está relacionada à infecção propriamente dita e não à presença de outras comorbidades (FALAGAS, 2006).

Dados epidemiológicos de 2008 reportam incidência de 1,27/1000 admissões no Paraná e o conhecimento sobre epidemiologia local será fundamental para otimizar estratégias de tratamento e desta forma diminuir mortalidade (FRANÇA, 2008).

## 1.2 OBJETIVOS

### Objetivo geral

Analisar o perfil clínico, epidemiológico e laboratorial das candidemias em oito hospitais terciários no Estado do Paraná.

## Objetivos específicos

Os objetivos específicos do trabalho são:

- a) Estudar, prospectivamente, a epidemiologia das ICS por *Candida* spp. no Paraná, incluindo taxas de incidência em 8 hospitais terciários localizados em cinco cidades de diferentes regiões do Estado do Paraná;
- b) Realizar a caracterização molecular das espécies isoladas e sua respectiva sensibilidade aos antifúngicos utilizados para tratamento de candidemia nos centros participantes;
- c) Correlacionar os isolados de *Candida* spp com fatores de risco, incluindo práticas de profilaxia; e
- d) Prover informações laboratoriais e clínicas relevantes, para serem utilizadas como base na decisão terapêutica para consensos locais e nacionais sobre diagnóstico e tratamento de candidemia.

## 1.3 METODOLOGIA

Trata-se de estudo observacional prospectivo multicêntrico para determinação das características epidemiológicas e microbiológicas de episódios de candidemia em hospitais terciários no Estado do Paraná.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

Nas últimas décadas, os hospitais têm se deparado com uma enorme quantidade de pacientes sobreviventes de doenças crônico-degenerativas, imunossuprimidos das mais diversas formas, seja por uso da incorporação de novos medicamentos modificadores de doenças, transplantados de células tronco-hematopoiéticas (TCTH), transplantados de órgãos sólidos (TOS) e mesmo de pacientes que sobrevivem a graves politraumas, permanecendo dias até meses hospitalizados e incluindo várias semanas em Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Para estes pacientes, várias são as condições que corroboram com o risco de infecção fúngica invasiva, destacando-se a imunossupressão secundária à doença de base, múltiplos distúrbios metabólicos e até iatrogênicos relacionadas a necessidade de procedimentos invasivos e exposição a antibióticos de amplo espectro.

Nos hospitais terciários americanos, o gênero *Candida* é responsável por 80% das infecções fúngicas documentadas representando um grande desafio para a comunidade médica (PFALLER, 1996).

Entre as infecções invasivas causadas pelo gênero *Candida*, salienta-se a relevância da infecção de corrente sanguínea (ICS), conhecida como candidemia ou candidíase hematogênica (COLOMBO, 2003).

Desta forma, o termo candidemia refere-se a presença de levedura do gênero *Candida* na corrente sanguínea (EVANS, 2010). Candidemia é a mais comum das manifestações invasivas da candidíase. A presença de *Candida* no sangue nunca deve ser interpretada como um agente contaminante e deve sempre ser analisada como uma fonte de infecção. Para muitos pacientes, a candidemia é a manifestação de candidíase invasiva que pode ter sido originária de vários órgãos, como também a partir da colonização de um cateter intravenoso (FRIDKIN, 2005).

O gênero *Candida* compreende cerca de 200 diferentes espécies, porém menos de 20 espécies apresentam relevância clínica, destacando-se a *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae*, *C. krusei* e, agora mais recentemente, *C. auris*. Esta última ainda não reportada no Brasil (ANVISA, 2017).

O maior reservatório de *Candida* spp é o trato gastrointestinal, colonizado em até 70% da população saudável. A candidemia pode ser adquirida por via endógena quando ocorre traslocação do microrganismo do trato gastrointestinal para a



corrente sanguínea. Alguns fatores relacionados com o aumento da colonização intestinal por *Candida* spp ou que levam a danos e atrofia de mucosa intestinal podem facilitar este processo, como uso de antibióticos de amplo espectro, obstrução intestinal, nutrição parenteral total, cirurgias abdominais e mucosites (LUNEL, 1999; AQUINO, 2005; COLOMBO, 2013b).

Entretanto, no ambiente hospitalar, a infecção também pode ocorrer de forma exógena a partir das mãos dos profissionais de saúde através da manipulação de cateteres intravasculares e soluções parenterais (COLOMBO, 2013b). Desta forma, os mesmos cuidados indicados para evitar transmissão intra-hospitalar das infecções causadas por bactérias, aplicam-se as infecções por *Candida* spp.

Os grupos mais vulneráveis a este tipo de infecção são pacientes neonatos, internados em UTI e os que apresentam malignidades hematológicas e de órgãos sólidos (CHAVES, 2012).

Os episódios de candidemia podem ser provenientes de infecções adquiridas por isolados da comunidade ou de origem nosocomial, quando se desenvolve alguns dias após o internamento (PHALLER, 2011).

A maioria das ICS são causadas pelas espécies *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* ou complexo *parapsilosis* (EGGIMANN, 2003; HAJJEH, 2004). As infecções remanescentes tendem a ser causadas por *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. haemulonii*, complexo *guilliermondii*; e agora mais recentemente, *C. auris*. Preocupação recente com espécies de *Candida* do complexo *haemulonii* apresentam uma baixa susceptibilidade aos azóis e Anfotericina B e estão associadas tanto com infecções superficiais quanto profundas. Espécies de *Candida* do complexo *guilliermondii* estão mais frequentemente associada às infecções relacionadas a cateteres centrais e ICS apresentam baixa susceptibilidade a azóis e equinocandinas (COLOMBO, 2017).

Recentemente descrita, a *C. auris*, que geralmente é multidroga resistente, é de difícil identificação laboratorial por métodos convencionais podendo resultar em tratamento inadequado e ainda poder causar surtos nos hospitais (CDC, 2018).

Várias dessas espécies possuem propriedades únicas que podem interagir com fatores locais e influenciam a epidemiologia da candidemia em instituições particulares, por exemplo, todas as quatro principais espécies de *Candida* são capazes de produzir biofilme (comunidades microbianas incluídas em um rico em polissacarídeos matriz) *in vitro* (SHIN, 2002).

Devido a capacidade reduzida de drogas antifúngicas para penetrar em biofilmes e erradicar organismos adentro, a formação de biofilmes tem sido implicada como causa contributiva das ICS primárias associados a cateteres e administração total de nutrição parenteral. Além da sua capacidade de formar biofilmes, *C. parapsilosis*, em particular, também pode colonizar a pele, levando à disseminação nosocomial através das mãos dos profissionais de saúde e persistência no ambiente hospitalar (CLARK, 2004; KUHN, 2004). Esses fatores contribuem para a sua proeminência como uma grande causa de infecção em neonatos também. Surtos de *C. parapsilosis* e emergência de cepas multi-droga resistentes tem sido reportadas, inclusive no Brasil (PINHATI, 2016; COLOMBO, 2017).

Somado à toda problemática relacionada à assistência hospitalar, especialmente pela demora no diagnóstico, identificação correta e tratamento apropriado, não se pode deixar de mencionar os custos implicados e impacto para os serviços de saúde, sendo que o principal fator se refere ao aumento do tempo de permanência hospitalar. Custos estimados do preço de uma candidemia já foram relatados. No Reino Unido este custo foi de aproximadamente 16,2 milhões de euros, com 683 mortes ao ano (HASSAN, 2009).

## 2.1 HISTÓRIA NATURAL

*Candida* spp faz parte da microbiota endógena normal, temporariamente ou de forma permanente no trato gastrointestinal. A colonização da superfície mucocutânea é rara, porém se sabe que a colonização é um pré-requisito para o desenvolvimento de infecção e se desenvolve secundariamente a alterações da microbiota as quais promovem o crescimento nas mucosas e na superfície corporal. Profissionais de saúde podem ter suas mãos colonizadas e ser fontes de infecção, conforme esta publicação mostrando colonização em 57% de 214 profissionais de saúde entre enfermeiros, residentes, profissionais de laboratório e médicos (YILDRIM, 2007).

*Candida* spp também pode se translocar especialmente quando existe quebra de barreira. A exposição a contínuos fatores de risco é responsável pela invasão, com crescimento secundário e disseminação hematogênica.

A transmissão nosocomial de *Candida* spp também tem sido relatada, entretanto estudos com comprovação genotípica confirmam que a maioria das infecções são de disseminação hematogênica (EGGIMAN, 2003).

A capacidade de um organismo de causar doença em um determinado hospedeiro denominada virulência, é o resultado de uma interação específica agente-hospedeiro. Mudanças no hospedeiro ou no agente podem afetar o grau de virulência, incluindo a presença ou ausência do mesmo. Além disso, a virulência pode ser considerada como uma propriedade emergente (CASADEVALL, 2011).

Por vezes, a virulência é expressa apenas sob certas condições. Isto é particularmente verdadeiro para patógenos oportunistas e, em contraste, com patógenos especializados em que o patógeno e a interação com o hospedeiro faz parte do seu ciclo de vida. Portanto, patógenos oportunistas só conseguem expressar seu potencial de virulência quando encontram um hospedeiro debilitado ou quando encontram-se no hospedeiro errado ou no tecido errado.

O aumento da incidência de *Candida* spp. como patógeno oportunista está associado a fatores ligados ao progresso tecnológico moderno. Além disso, a maioria das pessoas saudáveis pode transportar vários patógenos oportunistas como esta levedura como membros normais da sua microbiota. Assim, parece razoável supor que a virulência da *Candida* spp. geralmente resulta de uma alteração nas interações hospedeiro-microbio, principalmente iniciada no lado do hospedeiro. No entanto, também é verdade que, dadas as mesmas alterações no lado do hospedeiro, algumas espécies como *C. albicans* ou *C. glabrata* têm maior probabilidade de causar doença em comparação com outras leveduras coexistentes. Assim, parece também claro que a capacidade de infectar seres humanos é desenvolvida para diferentes graus em diferentes espécies de leveduras (GABALDON, 2016).

## 2.2 FATORES DE RISCO

Vários são os fatores de risco para o desenvolvimento de uma candidemia. Condições como colonização por *Candida* spp, uso de antibióticos de amplo espectro de ação, cateterização venosa central, nutrição parenteral, cirurgia gastrointestinal ou cardíaca, internação prolongada, internação em UTI,

queimaduras e condição neonatal de prematuridade, bem como imunossupressão, que pode envolver neutropenia, uso de corticosteróides, infecção por HIV e diabetes mellitus são os principais fatores de risco para candidemia. Entre as doenças endócrinas que estão relacionadas à maior susceptibilidade à infecção por *Candida* spp, destacam-se diabetes mellitus, síndrome de Cushing, hipoparatiroidismo, hipotireoidismo e poliendocrinopatias (YAPAR, 2014).

Os mecanismos pelos quais o diabetes mellitus aumenta susceptibilidade à infecção incluem aumento de nível tecidual de glicose, adesão alterada de leveduras e fagocitose. Embora os mecanismos celular e imune permaneçam controversos, vários estudos *in vitro* demonstraram defeitos significativos da função do linfócito T, opsonização, atividade celular *natural killer* e populações de células CD4+ de memória. Estudos recentes demonstram anormalidades de transdução de sinal, nas quais a própria insulinopenia e outros fatores, como a circulação de complexos imunes, podem estar envolvidos. A principal forma de imunossupressão que predispõe ao desenvolvimento de candidíase é um defeito na atividade fagocitária. Neutropenia e glicocorticóides aumentam o risco de disseminação da candidíase pela supressão da função fagocitária. O uso de antibióticos é outro fator que aumenta o risco de infecções fúngicas. Os antibióticos danificam o ecologia e nicho de microorganismos no intestino e nas superfícies do corpo, permitindo assim o supercrescimento de *Candida* e bactérias indesejáveis. Além disso, a interrupção das barreiras normais da pele, através de queimadura ou colocação de cateter percutâneo, o rompimento das barreiras mucosas intestinais, por cirurgia abdominal, instrumentação, indução da mucosite ou mucosa atrofiada por radiação ou nutrição parenteral são importantes fatores de risco para infecções invasivas por *Candida*. A permanência hospitalar prolongada é outro fator de risco (KAYA, 2008).

Estudos de vigilância têm demonstrado que as infecções fúngicas nosocomiais são mais frequentemente encontradas em UTI do que em outras unidades de internação (BLUMBERG, 2001; BLOT, 2001; KIBBLER, 2003; COLOMBO, 2007). Pacientes em UTI são submetidos a excessivo número de procedimentos invasivos, como cateterização venosa central para administração de fluidos, hemoderivados e monitorização hemodinâmica; cateterização urinária, ventilação mecânica, além de outros procedimentos invasivos, os quais também predispõem à infecção. Apesar dos riscos sabidamente conhecidos, estes dispositivos e procedimentos invasivos

são necessários, pois aumentam a sobrevida, diminuem mortalidade resultando em maior permanência nestas unidades de cuidados intensivos.

Blot et al, 2001, encontraram associação entre presença de infecção polimicrobiana associada e insuficiência renal como fatores de risco associados à maior mortalidade (BLOT, 2001).

Pacientes em UTI são expostos a excessivo número de antibióticos. Estudo de Yapar et al, 2014, comprovam o uso prévio de antibióticos de amplo espectro como um fator de risco importante para aquisição de candidemia (YAPAR, 2014).

A incorporação de novas drogas antifúngicas, a necessidade de diagnóstico precoce e acesso a estratégias terapêuticas profiláticas, preventivas e empíricas tem sido amplamente discutidas desde 2006 (OSTROSKY-ZEICHNER, 2006).

Um grande estudo de vigilância no Brasil, conduzido por Colombo e cols, publicado em 2007, envolvendo 4 hospitais terciários na cidade de São Paulo, revelou que 48% dos pacientes que apresentaram candidemia estavam internados em UTI (35% UTI adulto, 7% UTI pediátrica e 6% UTI neonatal) e como fatores preditivos para mortalidade encontraram idade avançada e escore de APACHE alto (COLOMBO, 2007).

Outro grande estudo nacional avaliou fatores epidemiológicos e prognósticos da candidemia em pacientes em UTI. Foram avaliadas, retrospectivamente, 1392 candidemias, em 647 pacientes em UTI adulto, em 22 hospitais brasileiros. Comparando-se os dois períodos (2003-2007) *versus* (2008-2012) observou-se um aumento de 44% para 50,9% na incidência de candidemia nas UTI. A letalidade diminuiu de 76,4% para 60,8%. Este estudo sugere uma mudança significativa na epidemiologia e manejo clínico da candidemia em UTI. O uso de equinocandinas como terapia primária para candidemia pareceu estar associada com melhores resultados (COLOMBO, 2014).

Montagna e cols, publicaram um estudo prospectivo observacional realizado entre 2007-2008. Avaliaram 462 episódios de candidemia em UTI. A distribuição entre as espécies foi a seguinte: *C. albicans* 49,4%, *C. parapsilosis* 26,2% e *C. glabrata* 10,4%. Observaram ainda uma mortalidade maior quando comparado com as espécies de *Candida* não *albicans* (47,3%) *versus* *C. albicans* (32,4%),  $p > 0,05$  e como fator de risco para *Candida* não-*albicans* foi a NPT, e para *C. albicans* a exposição a cirurgia (MONTAGNA, 2014).

Em 2016, um estudo europeu avaliou a correlação entre mortalidade e terapêutica antifúngica. Este estudo foi conduzido em um hospital terciário de 1100 leitos na Itália e foram avaliados 130 episódios de candidemias somente em enfermarias (clínica e cirúrgica). Observou-se uma mortalidade de 30,8% em 30 dias. Os pacientes receberam como terapia antifúngica: 40% fluconazol, 57% equinocandinas e 4% anfotericina B. Destes 130 pacientes, somente 12,5% necessitaram de internação em UTI e através de análise estatística, concluiu-se que a letalidade estava relacionada, também, à gravidade da doença de base (APACHE > 15) e não somente à terapêutica empregada (MURRY, 2016).

Um estudo realizado na França descreveu 191 episódios de candidemia em 188 pacientes durante 2004-2010 e revelou uma taxa de incidência de 0,37/1000 admissões, sendo alta incidência em pacientes hematológicos (6,65%). Como fatores risco, a presença de CVC e exposição prévia a múltiplos antibióticos foram relevantes, 77% e 76%, respectivamente (TADEC, 2016; AQUINO, 2005).

Mais recentemente, um estudo retrospectivo realizado em Israel, analisou 118 episódios de candidemias em enfermarias e UTIs no período de 2007 a 2014; 41,1% das candidemias foram causadas por *C. albicans* e como fatores de risco, uso de antibióticos de amplo espectro por mais de 90 dias e baixa capacidade funcional para os pacientes das enfermarias e na UTI. O principal fator de risco associado foi o uso de cateter venoso central (ELIAKIM-RAZ, 2016).

Pacientes em terapia renal substitutiva, os quais necessitam de cateteres por longos períodos, também apresentam altas taxas de candidemia. Estudo de Ourives, e cols., 2016, realizado no Hospital do Rim e Hipertensão em São Paulo, encontrou 14 candidemias em 29 pacientes que se encontravam em hemodiálise no período de 4 anos do estudo, com uma incidência de 0,04 a 0,32 casos/1000 hemodiálise/ano e ainda com um aumento no ano de 2016, possivelmente representando um surto naquela unidade. Foi ainda observado nesta casuística que 5 dos 14 casos apresentaram endocardite associada (36%), aumentando significativamente a morbimortalidade (OURIVES, 2016).

As neoplasias hematológicas, assim como os pacientes que são submetidos a tratamentos quimioterápicos, apresentam alto risco de desenvolver infecções invasivas devido à baixa resposta imune, neutropenia e outros fatores de risco, o que aumenta substancialmente a morbimortalidade nesta população (DINIZ, 2016).

Há poucas publicações específicas sobre candidemia em pacientes queimados, porém uma publicação recente aponta que os pacientes queimados apresentam os mesmos fatores de risco dos pacientes internados em UTI e ainda apresentam a extensa quebra de barreira e risco de infecção através de sítios previamente colonizados (RENAU, 2016).

No estudo realizado no Hospital das Clínicas da FMUSP, em 2010, foram estudados 136 episódios de candidemia, sendo 51 episódios em crianças. Sessenta e dois por cento das crianças tinham menos de um ano de idade e a prematuridade foi um fator de risco em 56,2% dos casos (MOTTA, 2010).

Em outra casuística nacional, um estudo retrospectivo entre 2003-2007 envolvendo 18 centros terciários, estudaram-se 117 candidemias em pacientes com câncer. Observou-se que quimioterapia, uso de corticosteroides, neutropenia, mucosite, presença de cateter tunelizado (CVC) foram os fatores de risco mais importantes para os pacientes com malignidades hematológicas, enquanto cirurgias, internação em UTI, nutrição parenteral e ventilação mecânica foram mais importantes para os pacientes com tumores sólidos. A mortalidade ainda foi mais alta entre os pacientes com tumores sólidos comparados aos onco-hematológicos (65% *versus* 45%,  $p=0,001$ ) (BERGAMASCO, 2013).

Vários estudos apontam para a necessidade da remoção do cateter como boa prática clínica tendendo a melhor evolução quando o mesmo é removido.

Andes e cols, publicaram um estudo sobre estratégias de impacto na evolução de pacientes com candidemia e concluíram que dois fatores associados tiveram impacto na sobrevida: a remoção do cateter e o tratamento com droga apropriada, neste caso, as equinocandinas (ANDES, 2012).

Um estudo nacional envolvendo seis hospitais brasileiros avaliou uma coorte de 145 pacientes com candidemia e fatores de risco para óbito. Encontraram, através de análise univariada, os seguintes fatores de risco associados ao óbito: idade avançada, retenção do cateter, candidemia por outras espécies que não *C. parapsilosis*, hipotensão, e ausência de tratamento antifúngico (NUCCI, 1998).

Todos os casos de candidemia necessitam ser tratados com drogas antifúngicas e jamais se pode assumir que a simples retirada do cateter é uma terapêutica adequada. Vários estudos comprovam taxas mais altas de mortalidade quando os pacientes não receberam terapia antifúngica. Além disso, o início do tratamento precoce é fator crucial para melhor evolução (NUCCI, 1998).



Kang e cols, estudaram os fatores de risco associados à mortalidade em 72 pacientes com candidemia persistente. Foram incluídos pacientes adultos de dois hospitais terciários na Coreia do Sul. Consideraram como candidemia persistente aqueles pacientes com culturas positivas a despeito do tratamento antifúngico por mais de 5 dias. Cateter venoso central, internação prolongada e sepse grave foram os fatores de risco apontados para persistência da candidemia e infecção por *C. tropicalis* foi um fator de risco independente para mortalidade (KANG, 2017).

Os principais fatores de risco para candidíase invasiva estão listados no quadro abaixo:

QUADRO 1. FATORES DE RISCO PARA CANDIDIASE INVASIVA EM ADULTOS E CRIANÇAS

Neoplasias sólidas ou hematológicas
Neutropenia
Insuficiência renal
Pancreatite aguda grave
Transplante de órgãos sólidos
Hospitalização prolongada em UTI
Apache II score alto
Hemodiálise
Uso de antibióticos de amplo espectro
Uso de antifúngicos
Presença de cateter venoso central
Ventilação mecânica
Nutrição parenteral total
Uso de imunossupressores
Colonização por <i>Candida</i> spp
Procedimentos cirúrgicos
Para neonatos e crianças
Prematuridade
Baixo peso ao nascer
Apgar baixo
Malformações congênitas

FONTE: Yapar (2014)

No quadro 2, pode-se observar o risco de candidíase invasiva e as características de vulnerabilidade da população.



QUADRO 2 – Fatores de risco associados às características da população

Risco de Candidíase Invasiva	Características dos pacientes	Tipo de CI *	Incidência
Baixo	Qualquer paciente hospitalizado com hemocultura coletada; Permanência em UTI sem estratificação de risco; Permanência em UTI após cirurgia cardíaca.	Candidemia	<1%
Baixo-Moderado	Diálise peritoneal com peritonite.	Candidíase abdominal	intra- 3-6%
Moderado	Permanência em UTI ≥4 dias, com fator de risco adicional para CI.	Candidemia	10-15%
Alto	Pancreatite necrotizante grave; Reoperação de cirurgia abdominal.	Candidíase abdominal	intra- 20-40%

FONTE: Clancy (2016 – adaptada). \*CI = Candidíase Invasiva

Apesar de serem bem conhecidos os fatores de risco tradicionais que predisõem o desenvolvimento de candidemias, estes não são preditivos de um segundo episódio de candidemia (BAILLY, 2017).

## 2.3 FATORES PROGNÓSTICOS

Estudo prospectivo, multicêntrico observacional de candidemia na cidade de São Paulo/Brasil que avaliou 7.038 infecções de corrente sanguínea, apontou como sendo a idade avançada e *score* de APACHE II como fatores relacionados a mau prognóstico entre os pacientes que desenvolverem candidemia (COLOMBO, 2007).

Idade avançada, alto índice de APACHE, admissão na UTI, diabetes mellitus, insuficiência renal crônica, ventilação mecânica, diálise, uso e corticosteroides também foram descritos como sendo associados com taxas de mortalidade aos 30 dias mais elevadas (COLOMBO, 2013b).

Um estudo recente conduzido em 4 hospitais universitários na Itália, avaliou retrospectivamente 235 episódios de candidemia em 36 meses. Reportaram 45% de óbitos relacionados a candidemia. Choque séptico e insuficiência renal crônica foram fatores independentes preditivos de mortalidade (SBRANA, 2018).

Vários são os estudos descritivos de incidência, porém estes são muito diferentes entre si, devido a particularidades regionais, especificidades do centro hospitalar, local de internação e não podem ser comparados. Desta forma, são os estudos populacionais que refletem a real prevalência dessa infecção. Em geral, as

maiores incidências são observadas nos extremos de idade ( menores de 1 ano de idade a maiores de 65 anos) respectivamente.

#### 2.4 AGENTES ETIOLÓGICOS DE CANDIDEMIA: IMPORTÂNCIA CLÍNICA DAS INFECÇÕES POR ESPÉCIES NÃO-C. *ALBICANS*

Nas últimas décadas, têm-se reconhecido a importância de espécies não-*C.albicans* como agentes causadores de candidemia.

Diversos estudos têm relatado este crescente aumento e sua significância clínica. A identificação completa da levedura responsável é fundamental para o conhecimento epidemiológico das infecções, seja para reconhecimento de surtos como também para otimização do tratamento correto. Infelizmente, e com certa frequência, observam-se pacientes com diagnóstico tardio e *pós-morte* de candidemia. Isto se deve a diversos fatores, dentre eles, a não-capacitação adequada dos laboratórios na identificação precoce e adequada das leveduras como também na baixa suspeição diagnóstica entre os médicos assistentes. Sendo assim, além do exame clínico, deve-se atentar para os fatores de risco que podem facilitar a suspeição e diagnóstico precoce. Observa-se que os médicos pouco se lembram de fungos como agentes de sepse.

Shultz e cols publicaram em 2013, um estudo sobre o contraste da percepção do diagnóstico de candidemia entre intensivistas e infectologistas. Neste estudo, realizado com 56 participantes que responderam um questionário de 38 perguntas, apenas 65,6% dos intensivistas acreditam que seja necessário tratamento antifúngico para candidemia. O tratamento com a droga de primeira escolha (equinocandina) foi preferido pelos infectologistas. Este estudo revela a necessidade de otimizar os esforços para educação médica no Brasil sobre a candidemia oferecendo melhores opções terapêuticas aos pacientes melhorando assim a assistência à saúde (SCHULTZ, 2013).

Em 2009, a IDSA (*American Society of Infectious Diseases*) propôs o acrônimo “**ESKAPE**” referindo-se a bactérias com emergência de resistência (E = *Enterobacter*, S = MRSA, K = *K. pneumoniae*, A = *A. baumannii*, P = *P. aeruginosa* e E = *Enterococo*) (BOUCHER, 2009).

Um editorial recente faz menção ao novo acrônimo “**CCC**”, referindo-se a três patógenos-problema que devem ser lembrados, são eles: *Clostridium difficile*, **CR-ERC** (enterobactérias carbapenêmicos-resistentes) e *Candida* spp (CORCIONE, 2017). O acrônimo “CCC” pode ajudar os programas de *stewardship* (protocolos e intervenções associadas a uso racional de antimicrobianos) focando questões atuais e lembrando os prescritores da importância de reconhecer as violações do trato gastrointestinal, evitando os danos colaterais causados pelo uso indiscriminado de antibióticos (DE ROSA, 2015).

Após o isolamento do fungo, é fundamental que este seja adequadamente identificado para que o paciente seja prontamente tratado. Acredita-se que 30 a 50% dos pacientes com candidemia não sejam identificados na rotina da maioria dos serviços. Nos próximos parágrafos, serão feitas algumas considerações a respeito das espécies mais frequentemente envolvidas nas candidemias.

Espécies mais frequentemente envolvidas na candidemia:

*C. albicans* é, sem dúvida, a espécie mais frequentemente envolvida tanto nas infecções superficiais quanto invasivas, em todos os sítios anatômicos e na grande maioria das casuísticas de todo mundo. Trata-se de uma levedura com potencial patogênico já conhecido como a capacidade de adesão em mucosas e epitélios e com produção de estruturas filamentosas que auxiliando a invasão tecidual e produção de proteinases e lipases. Esta espécie é naturalmente sensível a todas as classes de antifúngicos para uso sistêmico (ZAITZ, 2010).

*C. tropicalis* tem sido considerada como a segunda espécie de *Candida* mais virulenta, precedida apenas por *C. albicans*. Esta espécie tem sido reconhecida como um produtor de biofilme muito expressivo, superando *C. albicans* na maioria dos estudos. Além disso, produz uma ampla gama de outros fatores de virulência, incluindo: adesão a células epiteliais e endoteliais bucais; a secreção de enzimas líticas, tais como proteinases, fosfolipases e hemolisinas, transição *bud-to-hyphae* (também chamada morfogênese) e o fenômeno chamado comutação fenotípica. Essa é uma espécie intimamente relacionada com *C. albicans* e tem sido facilmente identificada com métodos fenotípicos e moleculares. *C. tropicalis* é uma espécie clinicamente relevante sendo considerada o segundo ou terceiro agente etiológico de candidemia, especificamente nos países da América Latina e Ásia. Resistência

antifúngica aos azóis, polienos, e equinocandinas já foi descrita (ZUZA-ALVES, 2017).

*C. glabrata* surgiu como um agente importante das candidemias, estando em segundo ou terceiro lugar nas casuísticas nos Estados Unidos e Europa. Rapidamente responsabilizada por muitas infecções letais. Ano após ano, essas circunstâncias patológicas são mais recorrentes e problemáticas no tratamento, especialmente quando os pacientes revelam qualquer nível de imunossupressão. Essas dificuldades decorrem da capacidade de *C. glabrata* de formar biofilmes e também de sua alta resistência às terapias antifúngicas tradicionais. Isolados de *C. glabrata* apresentam menor sensibilidade ao fluconazol e algumas até resistentes (RODRIGUES, 2014). Fatores de risco como uso de fluconazol prévio e diabetes estão associados com susceptibilidade reduzida ao fluconazol (TUMBARELLO 2008).

Como mencionado, a incidência de *C. glabrata* nos EUA aumentou substancialmente na última década. A razão para este aumento é desconhecida, mas há especulações de que deve-se ao uso generalizado de azóis (para o qual *C. glabrata* diminuiu susceptibilidade) para o tratamento e profilaxia de infecções fúngicas. *C. glabrata* é a espécie de *Candida* mais frequentemente descrita entre os casos de candidemia nos receptores de transplante de células-tronco hematopoiéticas. Há especulações de que, devido ao seu genoma haplóide, *C. glabrata* pode ser capaz de desenvolver tolerância ou resistência a azóis mais facilmente que outras espécies de *Candida* (LOCKHART, 2014).

Estudo de Lortholary et al, 2011, reportou que a exposição prévia ao fluconazol foi associada ao aumento da prevalência de *C. glabrata* e (LORTHOLARY,2011).

Lockart et al, 2011, descreveam que os valores de MIC (concentração inibitória mínima) do fluconazol para isolados de *C. glabrata* de pacientes que receberam profilaxia com fluconazol foram significativamente maiores do que os valores de MIC para isolados de pacientes virgens de fluconazol (LOCKHART,2011).

A família *Candida parapsilosis* surgiu como um importante patógeno oportunista e nosocomial. Causa de patologias multifacetadas em hospedeiros imunocomprometidos e normais, notavelmente recém-nascidos com baixo peso ao nascer (COLOMBO, 2003). Seu surgimento pode estar relacionado à capacidade de colonizar a pele, proliferar em soluções contendo glicose e aderir ao plástico. Quando os casos possivelmente relacionados a surtos aparecem, a determinação

do parentesco genético entre as cepas e a identificação de uma fonte comum são importantes. Sua virulência aparece associada à capacidade de produção de biofilme e produção de fosfolipase e aspartilprotease. Investigações adicionais das interações patógeno-hospedeiro são necessárias para o melhor entendimento da virulência destas cepas (VAN ASBECK, 2009).

*C. krusei* tem sido cada vez mais descrita como causa de candidemia, especialmente em pacientes portadores de doenças hematológicas malignas ou submetidos a transplante de medula óssea. Algumas publicações fazem associação com uso de fluconazol profilático nesta população (ABBAS, 2000).

*C. lusitaniae* foi inicialmente descrita como uma causa rara de fungemia, porém, ao longo das últimas duas décadas houve aumento acentuado de candidemia por este agente. Transplante de medula óssea e quimioterapia citorrredutora de alta dose foram identificados como fatores de risco para infecções por *C. lusitaniae*. Esses pacientes são frequentemente neutropênicos por longos períodos de tempo, deixando-os suscetíveis a infecções bacterianas e fúngicas, incluindo infecções por *Candida* (KRCMERY, 2002).

*C. lusitaniae* pode desenvolver resistência à anfotericina B (AMB), e é considerada muitas vezes suscetível aos outros antifúngicos sistêmicos (ASNER, 2015).

*C. dubliniensis* foi reconhecida como uma espécie com características bioquímicas e morfológicas muito parecidas com *C. albicans*. Foi inicialmente descrita em Dublin, na Irlanda, onde 17-35% dos pacientes com aids estavam colonizados na cavidade oral (SULLIVAN, 1998).

As particularidades apresentadas por diferentes espécies de *Candida* spp, do ponto de vista epidemiológico e terapêutico corroboram com a necessidade de identificação das leveduras em nível de espécie já que o tratamento poderá ser individualizado e otimizado baseado nesta informação extremamente relevante.

As condições clínicas associadas as diferentes especies encontra-se no quadro 3.

QUADRO 3 – Fatores de risco associados com diferentes espécies de *Candida*

<b><i>Candida</i> spp</b>	<b>Condições clínicas/ fatores de risco</b>
<b><i>Candida albicans</i></b>	Qualquer população (adultos, crianças, neonatos)
<b><i>Candida glabrata</i></b>	Idade, diabetes, câncer, neoplasias hematológicas, profilaxia com azólicos
<b>Complexo <i>parapsilosis</i></b>	Condições relacionadas a CVC, Neonatos, pacientes de UTI
<b><i>C.kruzei</i></b>	Profilaxia com azólicos, neoplasias hematológicas, corticosteroides,
<b><i>C. tropicalis</i></b>	Neoplasias hematológicas, corticosteroides

Adaptado de: GUINEA, 2014; FALAGAS, 2010 e ANTINORI, 2016.

A colonização por *Candida* spp tem sido bem identificada como um fator de risco independente para o desenvolvimento de candidemia, sendo um pré-requisito para a disseminação em pacientes críticos. Até 50% dos pacientes internados em UTI podem estar colonizados por *Candida* spp e por vezes por mais de uma espécie (TORTORANO, 2004a).

Utilizando delineação de *Candida* spp intraespécies, *Candida* spp já foi provada ser “paciente-específica” e a colonização preceder a infecção em pacientes cirúrgicos. Ainda já se sabe que a colonização ou infecção superficial com cepas genotipicamente idênticas das fezes precedem infecções de corrente sanguínea ou infecções invasivas assim como quanto maior a quantidade de sítios colonizados, maior o risco de infecção (EGGIMANN, 2003).

Alguns scores avaliaram a colonização por *Candida* spp associado a outros fatores associados com objetivo de avaliar o risco de infecção invasiva, são eles: “*Candida Score*”, proposto por Léon; “CCI” = índice de colonização por *Candida* de Pittet e “Ostrosky-Zeichner Score” (EGGIMANN, 2003; LEON, 2006; OSTROSKY-ZEICHNER, 2009). O NMC score, usando fatores que são facilmente obtidos, foi desenvolvido no Centro Médico de Nebraska e comparou-se favoravelmente com os demais scores (HERMSEN, 2011).

O valor preditivo positivo (VPP) é a proporção de verdadeiros positivos entre todos os indivíduos com teste positivo. Expressa a probabilidade de um paciente com o teste positivo ter a doença. Já o valor preditivo negativo (VPN) é a proporção de verdadeiros negativos entre todos os indivíduos com teste negativo. A sensibilidade de um método reflete o quanto este é eficaz em identificar

corretamente, dentre todos os indivíduos avaliados, aqueles que realmente apresentam a característica de interesse. Já a especificidade de um método reflete o quanto ele é eficaz em identificar corretamente os indivíduos que não apresentam a condição de interesse. A comparação dos VPP e VPN entre os escores encontra-se no Quadro 4.

QUADRO 4 – Sensibilidade e especificidade dos escores de colonização por *Candida spp*

	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
<b>León, 2006</b>	77,6	66,2	57,1	97,7
<b><i>Candida</i> score &gt; 3</b>				
<b>Cirurgia abdominal, sepse/choque séptico, NPT, colonização multifocal por <i>Candida</i></b>				
<b>Score Pitet</b>	64,3	69,6	27,3	91,7
<b>Colonização <i>Candida</i> (CI&gt;0,5; CCI &gt;0,4)</b>				
<b>Ostrozky-Zeichner</b>	73,9	60,6	4,2	99
<b>CVC + 2: NPT, hemodiálise, pancreatite, corticoides, imunossupressão</b>				
<b>NMC (Nebraska Medical Score)</b>	84,1	60,2	4,7	99,4
<b>NPT, CVC, antibiótico de amplo espectro, corticosteroides, cirurgia abdominal</b>				

Fonte: adaptada de ANTINORI, 2016. VPN = Valor preditivo negativo, VPP = Valor preditivo positivo.

Uma publicação recente fez comparação entre sistemas de *score* e concluiu que ambos *scores* de Wenzel e León, são bastante discriminativos entre diferenciar pacientes candidêmicos e não-candidêmicos à beira-leito. Porém, o *score* de pontuação de León foi apontado por ter alta especificidade, precisão de diagnóstico e razão de verossimilhança positiva entre todos. Concluíram, então, que um *score* de León  $\geq 2,5$  foi mais adequado para o diagnóstico de candidemia com acurácia



significativa e encurtamento do tempo de resposta quando comparado ao padrão-ouro de hemocultura (GUPTA, 2017).

O melhor método para identificar pacientes que provavelmente se beneficiarão de profilaxia antifúngica ainda não está claro. Devido ao alto VPN, esses *scores* são provavelmente melhor aplicados para identificar pacientes que menos provavelmente terão benefício da profilaxia antifúngica do que para identificar pacientes que deveriam receber tal terapia.

Novos estudos, incluindo a presença de biomarcadores, poderão auxiliar na aplicação destes escores e consequentemente reduzir terapia antifúngica desnecessária.

## 2.5. DIAGNÓSTICO

As infecções fúngicas invasivas são consideradas de grande morbidade e mortalidade, assim também a candidemia. Desta forma, o rápido diagnóstico das infecções fúngicas é crucial para terapia antifúngica adequada e deve ser iniciado prontamente. Entretanto, o diagnóstico nem sempre é fácil. A positividade das hemoculturas ocorre em apenas 50-70% dos casos de infecção de corrente sanguínea causadas por *Candida* spp (CLANCY, 2013). Ainda assim, pode levar vários dias para que a identificação final e o resultado do teste de susceptibilidade estejam disponíveis para o prescritor.

As hemoculturas são limitadas para o diagnóstico de candidíase invasiva por baixa sensibilidade e tempo de resposta lento (COLOMBO, 2017). A coleta de hemoculturas é procedimento obrigatório em qualquer paciente com suspeita de infecção sistêmica como a candidemia. A eficácia da hemocultura na correta identificação do agente etiológico vai depender de fatores relacionados não só com o processamento da cultura com também com as práticas de coleta. Ressalta-se a importância da assepsia adequada, 2 a 3 amostras por paciente com volume de, no mínimo, 10 mL por frasco para adultos. Métodos automatizados apresentam maior rendimento de positividade comparados aos métodos manuais.

Métodos comerciais estão disponíveis para identificação como Mycotube®, Candifast®, Auxacolor®, entre outros. Esses métodos têm como vantagem a identificação rápida e precisa de leveduras isoladas de todos os tipos de espécimes clínicos; são de fácil manipulação e permitem o processamento rápido de mais de



um isolado e, de forma geral, apresentam-se efetivos na identificação das leveduras, com exceção às espécies raras.

O meio de cultura CHROMagar *Candida* tem sido utilizado para triagem com resultados bem-sucedidos para selecionar *C. albicans* (colônias verde-claro), *C. krusei* (colônias rosas), *C. tropicalis* (colônias cinza-azuladas). Esse meio se baseia na utilização de substrato  $\beta$ -glicosaminidase e diferencia as leveduras de acordo com sua morfologia e a cor das colônias. A utilização deste meio facilita a detecção e identificação com menos tempo do que os métodos convencionais (ZAITS, 2010).

Alguns exames imunológicos não baseados em culturas, têm sido utilizados mais recentemente para detecção de componentes da parede celular no sangue, como a manana e  $\beta$ -D-glucana (BDG) através de imunoensaios, DNA por PCR e detecção de anticorpos por sorologia.

A pesquisa de  $\beta$ -1-3 glucana ou  $\beta$ -D-glucana é a mais recomendada para leveduras do gênero *Candida*. A  $\beta$ -1-3 glucana é constituinte da parede celular de muitos gêneros de fungos, podendo sua presença ser detectada no soro de pacientes infectados. O procedimento de detecção ocorre através de sistemas comerciais como Glucatell® e Fungitec-G® (ZAITS, 2010).

BDG tem boa precisão diagnóstica para distinguir IFIs provadas ou prováveis de não-IFIs. Pode ser útil na prática clínica, implementada na configuração apropriada e interpretada após a consideração de suas limitações, com um alto valor preditivo negativo (KARAGEORGOPOULOUS, 2011).

Manna/imunoglobulina G,  $\beta$ -D-glucana ( $\beta$ DG) e ensaios de reação em cadeia de polimerase (PCR) podem diagnosticar candidemia antes de hemoculturas e mostrar sensibilidade/especificidade promissoras, mas eles não são amplamente investigados em candidíase invasiva quando as hemoculturas são negativas. Em um recente estudo,  $\beta$ DG e PCR foram superiores às hemoculturas em candidíase, sugerindo que podem identificar pacientes atualmente não diagnosticados e expandir nossa compreensão do espectro da doença. Valores preditivos positivos de testes de não-cultura são limitados pela baixa prevalência de candidíase invasiva, que exige que os resultados sejam interpretados judiciosamente. Quando usados como biomarcadores que avaliam o risco do paciente de ter candidíase invasiva, os testes facilitam estratégias antifúngicas preventivas (LEÓN, 2017). Como os valores preditivos negativos são excelentes, os testes também serão úteis para descartar a candidíase invasiva e descontinuar a terapia antifúngica desnecessária (CLANCY,

2013). Como vantagem, um resultado positivo pode não diferenciar uma infecção pregressa de uma infecção atual (CLANCY, 2018).

Nucci e cols publicaram um estudo sobre o uso de  $\beta$ DG como marcador de infecção. A previsão adicionada por marcadores indiretos de infecção e aplicados de forma dinâmica foi capaz de discriminar um grupo de maior risco para desenvolver candidemia (RR=16,9), sendo que o  $\beta$ DG foi frequentemente positivo nestes pacientes, com valores médios menores em pacientes sem infecção por *Candida* spp; e, ainda, possibilitou interromper a anidulafungina em pacientes com  $\beta$ DG negativo não resultando em nenhum caso de candidemia recorrente no período de acompanhamento subsequente. Este estudo-piloto sugere que a descontinuidade precoce da terapia empírica de equinocandina em UTI em pacientes de alto risco baseado em testes  $\beta$ DG negativos consecutivos pode ser uma estratégia com grande potencial para reduzir o uso excessivo de equinocandinas em pacientes internados em UTI, além de reduzir custos (NUCCI, 2016a).

A detecção de ácidos nucléicos em material biológico como a amplificação de fragmentos específicos de genoma de fungos, a partir da técnica de PCR (*Polimerase Chain Reaction*), vem sendo estudada como instrumento diagnóstico (ZAITS, 2010).

A vantagem da PCR inclui o diagnóstico precoce e possibilidade de monitorar a persistência ou resolução da infecção. Os resultados da PCR foram relatados para preceder a candidemia ou sinais clínicos de CI em sete estudos, com variação de 1 dia a 4 semanas. Cinco estudos relataram que resultados de PCR positivos persistentes no sangue foram associados com mortalidade (AVNI, 2011).

Atualmente, um dos métodos mais amplamente recomendados para a análise molecular é o de ionização por dessorção a laser assistida por matriz, cuja sigla em inglês é MALDI (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization*), seguido pela detecção em um analisador do tipo tempo de voo, sigla TOF (do inglês, *Time of flight*). O MALDI-TOF tem sido utilizado com sucesso na investigação e identificação de proteínas e peptídeos, na identificação taxonômica de microorganismos, na genotipagem e análise de polimorfismos no DNA, na investigação de modificações pós-transcricionais no RNA, dentre inúmeras outras aplicações. Por se tratar de uma técnica de alta sensibilidade e de alto rendimento (uma amostra pode ser analisada em poucos minutos), novas abordagens vêm sendo desenvolvidas para atender a

necessidade de diagnósticos rápidos e precisos para diversas doenças (GOULART, 2013).

Ainda como diagnóstico molecular, uma moderna tecnologia denominada T2MR (Ressonância Nuclear Magnética) foi recentemente aprovada pelo FDA, em 2014. Trata-se de um método de detecção de diagnóstico que utiliza a tecnologia de ressonância magnética miniaturizada, que mede como as moléculas de água reagem na presença de campos magnéticos sendo a primeira e única tecnologia de detecção que pode identificar rápida e precisamente alvos moleculares dentro de amostras de pacientes sem a necessidade de purificação ou extração de moléculas-alvo da amostra. O T2MR elimina essas etapas de tempo e trabalho intensivo. Apresenta uma alta sensibilidade sendo a única tecnologia aprovada pelo FDA capaz de detectar baixos níveis de patógenos no sangue total.

Devido ao amplo espectro da doença, o diagnóstico laboratorial ainda deixa bastante a desejar, quando a mortalidade média é de 60%. Sendo assim, este exame é capaz de detectar cinco mais frequentes isolados de *Candida* spp (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. krusei*) em até 5 horas. A rapidez do diagnóstico pode ajudar a implementar algoritmos terapêuticos e ajuste da terapia baseada na identificação do agente (ZACHARIOUDAKIS, 2018).

O instrumento T2Dx completa automaticamente todas as etapas do Painel T2 *Candida* spp após o carregamento da amostra. Especificamente, T2Dx lisa os glóbulos vermelhos, concentra as células patogênicas e detritos celulares, lisa as células de *Candida* spp por batimento de contas mecânicas, amplifica DNA de *Candida* spp usando uma polimerase termoestável e *primers* pan-*Candida* spp para a intervenção região do espaçador 2, transcrito dentro da *Candida* spp ribossômica e, finalmente, detecta produto amplificado por aglomeração de partículas supermagnéticas e Medição T2MR. O T2MR é uma tecnologia automatizada que analisa diretamente as amostras de sangue e colesterol de espécies idênticas às existentes para o pré-isolamento de espécies de *Candida*, e representa uma mudança significativa para uma nova série de diagnósticos moleculares (MYLONAKIS, 2015).

A eficácia de custo da T2 candida dependerá da incidência de candidemia em cada hospital, assim como grupos de alto risco de pacientes nesse hospitais. Adicionalmente, os hospitais devem ter um sistema de relatórios e médicos que podem responder aos resultados rápidos de teste sem atraso iniciando terapia

apropriada. Embora exista otimismo que a T2 candida poderá reduzir a alta mortalidade da candidemia, existem poucos estudos que comprovem melhores resultados com tratamento precoce (HAWLEY, 2018).

O desempenho destes exames pode ser visualizado no quadro abaixo:

**QUADRO 5** – Desempenho dos exames laboratoriais não baseados em cultura de sangue para diagnóstico de candidemia

	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	Referências
β-D-Glucana	75-80%	80-87,7	LAMOTH,2012; HE,2015, KARAGEORGOPOULOUS,2011; CLANCY,2018.
Candida mannan Ag	58	93	MIKULSKA, 2010
Anti-manana Ag	59	83	MIKULSKA, 2010.
Combinação Manana + Antimanana	83	86	MIKULSKA, 2010.
PCR	95	92	AVNI,2011.
T2MR	***	99,4	MYLONAKIS, 2015.

\*\*\* Depende da incidência de candidemia local. FONTE: Oliveira, 2018.

A pesquisa de antígenos como Candida mannan e anti-manana não encontram-se disponíveis no Brasil.

## 2.6 TRATAMENTO

A escolha da melhor terapia antifúngica para pacientes com candidemia deve considerar a presença de infecções complicadas em órgãos, gravidade do episódio, espécie de *Candida* envolvida, risco para toxicidade renal, exposição prévia a antifúngicos, presença de cateter venoso central e necessidade de cirurgia para remoção de focos infecciosos (COLOMBO, 2013b).

Atualmente encontram-se disponíveis para o tratamento das candidemias basicamente 3 classes de drogas, a saber: poliênicos (anfotericina B), azóis (fluconazol) e equinocandinas (anidulafungina, micafungina e caspofungina).

A anfotericina B convencional foi muito utilizada para tratamento de candidemias, e ainda é usada nos cenários de UTI neonatal. Trata-se de antifúngico de amplo

espectro, fungicida porém com toxicidade relatada em mais de 80% dos pacientes que recebem 0,5 mg/kg/dia. Ressalta-se ainda para efeitos adversos como náuseas, vômitos, tremores e febre durante a infusão. Seu uso clínico fica limitado em pacientes com múltiplas disfunções de órgãos e de forma concomitante com outras drogas nefrotóxicas.

As formulações lipídicas de anfotericina B apresentam a mesma eficácia da formulação convencional com diferenças significativas nos efeitos adversos especialmente no que tange a nefrotoxicidade. As formulações lipídicas disponíveis no Brasil são anfotericina lipossomal e anfotericina complexo lipídico e devem ser usadas nas dose de 3-5 mg/kgdia. Formulação lipídica de anfotericina B (AmB) é uma alternativa razoável, especialmente, se houver intolerância ou limitação de disponibilidade ou resistência a outros agentes antifúngicos. Ainda, a transição da AmB para o fluconazol pode ser recomendada após 5-7 dias entre os pacientes que têm isolados suscetíveis ao fluconazol, que estão clinicamente estáveis e nos pacientes que apresentam culturas repetidamente negativas (PAPPAS, 2016).

O fluconazol é um triazólico com excelente segurança e tolerabilidade, boa penetração na maioria dos fluidos. Apresenta concentrações sérica e oral similares. É uma excelente opção para as cepas sensíveis e uma excelente estratégia no descalonamento e terapia sequencial nos programas de *stewardship*. Como o fluconazol tem sido utilizado em vários regimes de profilaxia, atenta-se para a emergência de cepas resistentes. É uma droga fungistática, e portanto, faz-se a ressalva de que talvez não seja a melhor droga para início de tratamento (ESCHENAUER, 2015).

Na casuística de Ruan, avaliando retrospectivamente as candidemias em uma UTI na China, encontraram 11% de resistência ao fluconazol das *C. glabrata* e esta era a segunda espécie mais prevalente (30%) seguida de *C. albicans* (RUAN, 2007).

Vale lembrar que a duração do tratamento é de 14 dias após a negatificação das culturas e desaparecimento dos sinais e sintomas relacionados a candidíase hematogênica e que fluconazol pode ser usado como terapia sequencial em pacientes que iniciaram tratamento com anfotericina B ou equinocandina, que estejam hemodinamicamente estáveis e com a infecção por *Candida* controlada (LEROY, 2016).

Ressalta-se que cepas de *C. glabrata* podem necessitar de doses maiores de fluconazol e que *C. krusei* são resistentes a este triazólico. Fluconazol ainda é

bastante suportado em vários estudos de profilaxia em neonatologia, alegando não somente eficácia como segurança na população de baixo peso (<1000g) (HOPE, 2012).

Recomenda-se cautela para indicar uso do fluconazol em pacientes graves e/ou previamente expostos a este fármaco (GARNACHO-MONTERO, 2012).

Devido ao limitado arsenal de agentes antifúngicos alternativos disponíveis em caso de falha antifúngica, a possibilidade de expansão da resistência antifúngica em *Candida* tem sido motivo de preocupação. O fluconazol é o mais prontamente disponível e o mais frequentemente prescrito; é um tratamento barato e eficaz para a CI e recomendado para a maioria das infecções por *Candida*. Como *C. albicans* tem sido a espécie mais prevalente e, portanto, a resistência mais frequentemente isolada, o uso do fluconazol em *C. albicans* tem sido bem estudado. Embora a *C. albicans* seja conhecida por ser capaz de desenvolver resistência ao fluconazol, fora das populações onde os pacientes podem receber profilaxia ou tratamento a longo prazo com oazol isso é raro. Após quase 20 anos do uso do fluconazol para o tratamento primário de infecções por *C. albicans*, a resistência geral ainda permanece baixa (LOCKART, 2014).

No Brasil, um estudo que avaliou 147 episódios de candidemias ocorridos de 2006 a 2010 em um hospital de Campinas, Estado de São Paulo, encontrou baixa resistência ao fluconazol mesmo em serviços que utilizam fluconazol profilático para determinadas situações (PERON, 2016).

O voriconazol é o único outro antifúngico azólico para o qual atualmente existem *breakpoints* para *Candida*. Esses *breakpoints* existem somente para *C. albicans*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* (CLSI, 2017). Entre essas espécies, a resistência a este antifúngico é rara, geralmente na faixa de 1% a 3%, e mais frequente entre os isolados resistentes ao fluconazol. Não haver *breakpoint* para voriconazol para *C. glabrata* não indica uma falta de eficácia clínica, mas sim a falta de um valor de CIM claro e definido, confiavelmente associado à eficácia clínica (CLSI, 2017).

O voriconazol 400mg (6mg/kg), duas vezes por dia, por 2 doses seguido de 200mg (3mg/kg), duas vezes ao dia, é eficaz para candidemia, porém apresenta pouca vantagem sobre o fluconazol como terapia inicial (forte recomendação; evidência de qualidade moderada). Este, pode ser recomendado como terapia oral

de substituição para casos de candidemia por *C. krusei* assim como em pacientes neutropênicos estáveis que possam receber terapia oral (PAPPAS, 2016).

As equinocandinas (caspofungina, anidulafungina e micafungina) são os mais recentes agentes antifúngicos disponíveis e mostram uma grande promessa para o tratamento da CI. O valor de corte (*breakpoints*) da CIM para *C. albicans*, *C. tropicalis* e *C. krusei* tendem a ser bem abaixo do ponto de corte de resistência específica do CLSI de 1µg/mL para cada uma das equinocandinas ( $\leq 0,25-0,12$ ). A resistência dos isolados dessas três espécies às equinocandinas é rara e geralmente encontra-se na faixa de 0% a 1% dos isolados testados. Quando a resistência é notada, a maioria dos isolados resistentes abriga mutações específicas em uma subunidade da enzima-alvo – 1,3-glucano-sintase. Essas mutações são coletivamente conhecidas como mutações FKs e aparecem especificamente em um ou ambos os dois pontos ativos (consistindo de 9 aminoácidos cada) dentro da proteína Fks (CLSI, 2017).

As equinocandinas apresentam limitação para infecções no SNC, oculares e apresentam baixas concentrações na urina (FELTON, 2014). Devem ser usadas com cautela e geralmente limitadas à terapia de resgate ou a situações nas quais a resistência ou a toxicidade impedem o uso de desoxicolato de amB ou fluconazol (PAPPAS, 2016). Não estão disponíveis via oral. Alguns trabalhos reportam melhores taxas de sucesso para equinocandinas quando comparada ao fluconazol, porém isto não se aplica para pacientes com fungemia por *C. glabrata* (ESCHENAUER, 2015). Dentre as equinocandinas, prefere-se a Micafungina para população pediátrica devido segurança comprovada (HOPE, 2012). As equinocandinas são usadas como terapia de primeira linha para candidemia devido a *C. lusitanae*. O alvo das equinocandinas é a  $\beta$ -1,3-glucana sintase e é codificado pelos genes Fks (ASNER, 2015).

Em uma metanálise realizada por Andes e cols. foi possível avaliar o impacto das estratégias de tratamento dos pacientes com candidemia, relacionando-as com equinocandinas, apresentaram taxa de sobrevida maiores que aqueles que receberam um polieno ou triazol. A sobrevivência também foi melhor para os pacientes que foram submetidos à remoção do cateter venoso central durante o tratamento. Em contrapartida, o aumento da idade, o uso concomitante de terapias imunossupressoras e infecção por *C. tropicalis* estavam associados com maior taxa de mortalidade (ANDES, 2012).



Todas as equinocandinas têm efeitos adversos mínimos. As propriedades farmacológicas em adultos também são muito semelhantes, e todas são administradas uma vez por dia. A principal via de eliminação é a degradação não enzimática. Nenhuma das equinocandinas requer ajuste posológico para insuficiência renal mesmo em diálise. Tanto a caspofungina como a micafungina sofrem metabolismo hepático mínimo, mas nenhuma droga é um substrato importante para o citocromo P450. A caspofungina é a única equinocandina para a qual a redução da dose é recomendada para pacientes com disfunção hepática moderada a grave (PAPPAS, 2016).

Uma publicação recente aponta para melhores resultados quando há troca de fluconazol para equinocandina apresentando mortalidade de 37,4% para pacientes tratados com fluconazol comparado a 31,9% quando tratados com equinocandinas (BENNET, 2018).

Ainda sobre o tratamento, discute-se o benefício de tratar pacientes com culturas de cateter positivas para *Candida* spp e hemoculturas negativas. Uma metanálise publicada recentemente por Almeida e cols em 2014, observou que devido à baixa qualidade dos estudos publicados, não foi possível ter uma conclusão apropriada (ALMEIDA, 2014). Porém, devido à alta mortalidade desta afecção, deve-se considerar a abordagem de terapia pré-emptiva diante de cateteres colonizados em pacientes com outros fatores de risco e que ainda permaneçam febris a despeito de terapia antimicrobiana de amplo espectro apropriada.

Mesmo sabendo que o diagnóstico de uma infecção fúngica atrase a quimioterapia e essa conduta possa alterar o prognóstico, para os pacientes leucêmicos, a recomendação é de suspender a quimioterapia para tratamento da infecção fúngica invasiva e de que esta somente seja reiniciada após infecção completamente resolvida (NUCCI, 2014).

## 2.7 PANORAMA MUNDIAL DA CANDIDEMIA

Vários estudos têm contribuído para dar ênfase a relevância das candidemias em hospitais terciários no mundo todo. Estes estudos são de extrema importância para o reconhecimento de importantes informações sobre a epidemiologia destas infecções e de suas particularidades regionais. A grande maioria destes estudos é



norte-americana e são estudos de vigilância ativa, prospectivos e baseados em população como os estudos conduzidos pelo *Centers for Diseases Control and Prevention* (CDC), do *National Epidemiology of Mycoses Survey* (NEMIS), do *Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiologic Importance* (SCOPE) e do SENTRY (*Antimicrobial Surveillance Program*).

O estudo do CDC foi um estudo prospectivo, ativo, de vigilância de candidemia com base populacional realizado em duas diferentes áreas geográficas dos EUA (Atlanta e São Francisco) durante os anos de 1992 e 1993. Revelou uma incidência média anual de candidemia de 8 casos/100.000 habitantes, sendo a maior incidência (75 casos/100.000 habitantes) observada em crianças menores de um ano de idade. As doenças de base encontradas foram: neoplasias (26%), cirurgia abdominal (14%), diabetes mellitus (13%) e infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (10%). As espécies de *Candida* não-*albicans* corresponderam a 47% dos casos, sendo *C. parapsilosis*, *C. glabrata* e *C. tropicalis* as espécies não-*albicans* mais frequentemente isoladas (KAO, 1999).

O estudo NEMIS foi um estudo prospectivo, multicêntrico, conduzido em seis centros médicos americanos com objetivo de avaliar as taxas e os fatores de risco para o desenvolvimento de ICS por espécies de *Candida spp* entre pacientes internados em unidades de terapia intensiva cirúrgica durante os anos de 1993-1995. A incidência encontrada de candidemia foi 9,82/1.000 admissões e 0,98/1.000 pacientes-dia. Os fatores de risco independentemente associados com o desenvolvimento de candidemia foram: cirurgia prévia, insuficiência renal aguda, nutrição parenteral e para pacientes submetidos à cirurgia, a presença de CVC de triplo lúmen (BLUMBERG, 2001).

Já o projeto SCOPE foi desenvolvido com o objetivo de monitorar as ICS nosocomiais através de uma rede de 49 hospitais americanos geograficamente distribuídos pelo país, durante um período de 3 anos (1995 a 1998). Durante este período, 10.617 episódios de ICS nosocomiais foram avaliados, sendo que as espécies de *Candida* foram a quarta causa mais comum, correspondendo a 7,6% dos isolados (EDMOND, 1999).

O projeto de vigilância SENTRY de ICS, conduzido de 1997 a 1998, detectou 634 episódios de candidemia em 34 centros médicos nos EUA, Canadá e América Latina. A *C. albicans* correspondeu a 54,3% dos episódios de ICS, seguido por *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e *C. krusei* (PFALLER, 2000). A sequência

deste projeto revelou 1.184 episódios de candidemia em 71 centros nos EUA, Europa, América Latina e Canadá nos anos de 1997 a 1999. *C. albicans* correspondeu a 55% dos episódios de ICS, seguido por *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* e outras espécies (PFALLER, 2001). Por fim, a continuidade do projeto até dezembro de 2000 demonstrou 2.047 episódios de candidemia nos mesmos centros com a mesma ordem de frequência na distribuição das espécies (PFALLER, 2002).

Na sequência, um estudo americano reportou, em um total de 1.143 episódios de candidemia, uma incidência anual de 10 casos/100.000 habitantes ou 1,5 casos/10.000 dias de hospitalização (HAJJEJ, 2004). E no mesmo ano, outro importante estudo americano, com uma casuística com 24.179 ICS nosocomiais detectados em 49 hospitais americanos demonstrou que as espécies de *Candida* spp. continuam a ocupar o quarto lugar como agente causador de ICS (9%), só perdendo para os estafilococos coagulase-negativo (31%); *S. aureus* (20%) e Enterococos (9%). (WISPLINGHOFF, 2004).

Os estudos conduzidos na Europa também têm demonstrado incidências elevadas de ICS causadas por *Candida* spp. Um estudo conduzido em 17 centros na Suíça durante o período de 1991 a 2000 demonstrou que as espécies de *Candida* ocupam o sétimo lugar entre os agentes etiológicos isolados de ICS (2,9%), sendo a *C. albicans* a espécie mais prevalente (66%), seguida da *C. glabrata* (15%), *C. tropicalis* (9%), *C. krusei* (2%) e *C. parapsilosis* (1%). (MARCHETTI, 2004).

Outro estudo europeu realizado pela European Confederation of Medical Mycology (ECMM) na Itália, no período de 1997 a 1999 demonstrou uma incidência de 0,38 casos de candidemia/1.000 admissões, sendo a *C. albicans* responsável por 58% dos casos (TORTORANO, 2004b). Na Bélgica, um estudo realizado em 2002 analisou 211 episódios de candidemia em 28 hospitais, sendo *C. albicans* responsável por 55% dos casos, seguido de *C. glabrata* (22%) e *C. parapsilosis* (13%) (SWINNE, 2004).

Mais recentemente, em um estudo de prevalência, chamado de EPIC II realizado em 2007, que incluiu 7087 pacientes em UTI de 75 países, *Candida* spp foi o terceiro mais prevalente patógeno com uma taxa de infecção de 17%. A incidência de candidemia variou entre 2 -6,7/1000 admissões (VINCENT, 2009).

Estudos mais recentes nos Estados Unidos têm revelando mudanças com redução da incidência da candidemia, e chamam atenção para a mudança no perfil

de susceptibilidade aos antifúngicos (CLEVELAND, 2012; CLEVELAND, 2015). Um grande estudo de base populacional realizado no Texas, avaliou 11544 hospitalizações por candidemia no período de 2001 a 2010, sendo que 65,4% dos pacientes precisaram ser admitidos em UTI. Encontraram uma incidência de 2,73-5,21/100.000 habitantes com uma incidência de 1,61-3,34/10.000 admissões e uma incidência maior ainda nas UTIs (8,33-13,77%) (OUD, 2016).

Estudos epidemiológicos realizados na Europa também têm contrubuído para conhecer mais sobre esta infecção. Na França, o estudo de Lortholary e cols, conduzido em 24 hospitais terciários com 2571 pacientes com candidemia revelou que 48,1% dos isolados ocorreram na UTI sendo que a *C. albicans* foi responsável por 57,1% das candidemias e os autores chamaram atenção de que apesar da disponibilidade agentes antifúngicos e vários *guidelines* recomendando prevenção das candidemias, esta prática ainda não é universal e a candidemia continuava sendo uma frequente causa de morbidade e mortalidade naquele país (LORTHOLARY, 2014).

Uma publicação da Itália, revelou que a maioria dos pacientes com candidemia apresentava outras doenças associadas no momento da candidemia. Aproximadamente 45% passaram por intervenção cirúrgica, 41% tinham tumor sólido, 11% eram diabéticos, 7% tinham malignidades hematológicas e 1% eram portadores de HIV (BASSETTI, 2011).

Na Turquia, um estudo publicado em 2017, revelou uma incidência de 1,76/1000 admissões na UTI com uma mortalidade assustadora de 83,3%. As espécies mais encontradas foram *C. albicans*, seguida de *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*, sendo que todas as cepas de *C. glabrata* foram resistentes a itraconazol (TIGEN, 2017).

Ruan & Hsueh, reportaram incidência de candidemia na China nos últimos 20 anos e encontraram de 0,75 até 4,3/1000 admissões ou altas, dependendo do centro estudado (RUAN, 2009). Na sequencia, outra publicação avaliando retrospectivamente 147 episódios de candidemia em UTI em Taiwan, encontraram que a *C. glabrata* era o segundo agente mais frequente com uma incidência de 1,3/1000 admissões na UTI e com uma mortalidade de 53% (RUAN, 2007).

Na Costa Rica, a incidência reportada de candidemias foi de 1,47/1000 admissões com 62% de *Candida* não-*albicans* e a *C. parapsilosis* apresentou uma

forte associação com CVC e nutrição parenteral (OR 4,8 IC 95%) com valor  $p < 0,001$ . A letalidade nesta casuística foi de 50% (VILLALOBOS, 2016).

Para determinar características epidemiológicas da candidemia no México, um grande estudo foi realizado em dois centros de referência na cidade do México. A candidemia representou 3.8% das ICS com uma incidência acumulada de 2,8 /1000 saídas e 0,38/ 1000 pacientes-dia. A *C. albicans* foi a espécie mais encontrada, seguida de *C. tropicalis* (26%) (CORZO-LEON, 2014).

Chen e cols, relatam a epidemiologia das infecções fúngicas na China. Neste estudo, relatam que os episódios de candidemia ocorrem também por outras espécies de *Candida*, não somente as *C. albicans* (CHEN, 2018). A incidência global de candidemia na China foi de 0,03-0,5% em estudos de base populacional (FALAGAS, 2010).

De uma forma geral, tem-se observado ao longo dos últimos anos, algumas mudanças na epidemiologia das candidemias. Globalmente, a frequência de *C. albicans* está diminuindo, enquanto que *C. glabrata* e *C. krusei* são estáveis, e *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* estão aumentando. Características do paciente e uso de antifúngico anterior à terapia também tem uma influência considerável na distribuição e frequência de *Candida spp.*, independentemente da área geográfica. *C. albicans* é mais freqüente em pacientes com idade até 18 anos, a frequência de *C. parapsilosis* diminui com a idade e *C. glabrata* é mais comum no idosos (GUINEA, 2014).

Os dados de incidência mundial e distribuição das espécies podem ser visualizados no quadro a seguir:

**QUADRO 6** – Incidência da Candidemia em diversos países e distribuição de frequência por espécies

Autor, ano de publicação	Desenho estudo	País	Incidência	DISTRIBUIÇÃO ESPÉCIES (%)					Letalidade	
				C.albicans	C.glabrata	C.parapsilosis	C.tropicalis	C.krusei		Outros
Kao, 1999	Prospectivo Vigilância (1992-1993)	Estados Unidos Atlanta San Francisco	8 casos/100.000 habitantes	53	Não-albicans 47					
Blumberg, 2001	Prospectivo Vigilância (1993-1995) NEMIS	Estados Unidos Atlanta, Iowa, Los Angeles, New York, Portland, Texas	9,82/1000 admissões 0,98/1000 pacientes-dia	48	24	7	19	2		
Edmond, 1999	Prospectivo Vigilância (1995-1998)	Estados Unidos 49 hospitais 934 episódios	10617 ICs 934 episódios candidemia	46,8	42,3	21,1	26,1			39,9%
Diekema, 2002	Prospectivo 1998-2001	254 episódios 16 hospitais Estados Unidos Iowa	6 casos/100.000 habitantes	58	20	7	11			
Poikonen, 2003	Retrospectivo 1997-1999 Hospital Universitário Central de Helsinki	479 episódios 1600 leitos Finlândia	1997 1,7-2,3/100.000 hab 0,03-0,05/1000 pacientes-dia	70						35%
Kibbler, 2003	Prospectivo 6 hospitais	Reino Unido Inglaterra País de Gales	3/1000.000 pacientes-dia	64,7						26,4%

Autor, ano de publicação	Desenho estudo	País	Incidência	DISTRIBUIÇÃO ESPÉCIES (%)						Mortalidade
				<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	Outros	
Tortorano, 2004b	Prospectivo, 1999-1997 Multicêntrico	106 instituições participantes 2038 isolados (França, Áustria, Alemanha, Itália, Espanha, Suécia, Reino Unido)	0,2-0,38 casos/1000 admissões 3-4,4/100.000 pacientes dia	56,4	13,6	13,3	7,2	1,9	<i>C. guilliermondii</i> 1,4	
Hajjaj, 2004	Prospectivo 2 centros	1143 episódios Estados Unidos, Baltimore e Connecticut	Baltimore:24 casos/100.000 habitantes Connecticut: 7 casos/100.000 habitantes	45	24	13	12	2		36%
Marchetti, 2004	Retrospectivo 1997-2000	464 episódios 17 hospitais universitários  Suíça	0,54 casos/10.000 pacientes-dia 0,36 casos /1000 admissões 1,2-6,4/100.000 habitantes	65 - 70	15	1 - 5	5 - 9	1 - 2		
Swinne, 2004	Prospectivo, Programa de vigilância nacional	211 episódios 28 hospitais participantes Bélgica		55	22	13	2,8	2,3	<i>C. guilliermondii</i> 0,4	

Autor, ano de publicação	Desenho estudo	País	Incidência	DISTRIBUIÇÃO ESPÉCIES (%)						Mortalidade
				<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	Outros	
Almirante, 2005	Prospectivo 2002-2003	345 episódios 14 hospitais Barcelona -ES	0,53casos/1000 admissões 0,73/10.000 pacientes-dia 4,3/100.000 habitantes	51	9	23	10	4		
Sandven, 2006	Retrospectivo 1997-2003 Estudo de vigilância Nacional	1393 episódios Noruega	6,5-15,6 casos/100.000 habitantes	70	13	6				
Chen, 2006	Prospectivo Vigilância 2001-2004	1095 episódios Austrália	1,81 casos/1000.000 habitantes	47,3	15,4	19,9	5,1	3		
Nakamura, 2006	Centro único retrospectivo 1993-2002	125 episódios Japão		30,1		39,2				48%
Odds, 2007	Multicêntrico	300 isolados Escócia	4,8/100.000 habitantes 5,9/100.000 pacientes-dia 10,4/100.000 habitantes	52	22,7	11,7	2		<i>C.guilliermondii</i> 3,3	
Arendrup, 2008	Estudo de Vigilância Nacional 2004-2006	1089 episódios Dinamarca		53,8 - 66,1	16,7 - 22,7			3,2 - 6,4		

Autor, ano de publicação	Desenho estudo	País	Incidência	DISTRIBUIÇÃO ESPÉCIES (%)						Mortalidade
				<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	Outros	
Ruan, 2009	Multicêntrico	147 Isódios Taiwan, 148 China	4,3/1000 admissões 1,3/1000 admissões UTI	39	30	8	18		<i>C. guilliermondii</i> 3	53%
Dimopoulos, 2008	Prospectivo Vigilância microbiológica	Centro único 56 solados 57 Grécia	3,8/1000 pacientes-dia	35,7	14,3		7		<i>C. dubliniensis</i> 1,8	52,8%
Bougnoux, 2008	Prospectivo	24 UTI adultos França 57 episódios	6,7/1000 admissões 0,69/1000 pacientes-dia	56	17					61,8%
Conde-Rosa, 2010	Retrospectivo Vigilância laboratorial 2005-2006	Centro único Puerto Rico 204 isolados		28	4	4,9	17	1		48,9%
Leroy, 2010	Estudo prospectivo, Centro único 2005-2006	136 episódios UTI-França		57,4	18,3	8,8	6,6	4,4	<i>C. kefyr</i> 2,9	
Bassetti, 2011	Prospectivo 2008-2010	348 episódios Hospital Universitario Itália	1,73/1000 admissões	50	9,5	28,4	6	2,6		55,5%
Asmundsdóttir, 2013	Prospectivo 2000-2011 Multicêntrico	208 episódios Islândia	5,7/1000.0000 habitantes	56	16		13			69,5-70,4%



Autor, ano de publicação	Desenho estudo	País	Incidência	DISTRIBUIÇÃO ESPÉCIES (%)						Mortalidade
				<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	Outros	
Ma, 2013	Retrospectivo 2009-2011	133 episódios Hospital Jiling Nanjing/China	0,71-0,85 casos /1000 saídas	23,3		19,5	28,6			44,7
Lortholary, 2014	Estudo de vigilância ativa 2002-2010 24 hospitais terciários	França 2571 episódios		56	18,6		9,3	2,9	<i>C. kefyr</i> 1,8	56,9%
Corzo-Leon, 2014	2008-2010	2 centros terciários Cidade do México	2,8/1000 saídas 0,38/1000 pacientes-dia	46	50		26			46
Tadec, 2016	Retrospectivo Nantes Hospital 2004-2010	191 episódios França	0,37/ 1000 admissões	51,8	9,8	14,5	9,8	4		30,9%
Murry, 2016	Prospectivo Monocêntrico	130 episódios Hospital Roma- Itália 1100 leitos		58	7	23				33%
Villa Lobos, 2016	Prospectivo Monocêntrico (2007-2011)	210 episódios Costa Rica	1,47/ 1000 admissões	38	7	42	10			50%
Tigen, 2017	Monocêntrico Retrospectivo (2011-2013)	37 episódios UTI Turquia	1,76/ 1000 admissões	75	11	6	3,8			83,3%
Chen, 2018	Artemis Disk Global Antifungal Surveillance Program 1997-2007	China	0,03-0,5/1000 admissões	40,1	12,9	21,3	17,2	2		36-60%

## 2.8 CANDIDEMIA NA AMÉRICA LATINA

Na América Latina, foram realizados dois grandes estudos, um na população adulta e outra na população pediátrica. Nucci e cols realizaram um estudo de vigilância laboratorial durante dois anos e avaliaram 672 episódios de candidemia em 20 centros na América Latina, dentre eles, o Brasil. Encontraram uma incidência na população adulta de 1,18/1000 admissões com quase 60% de óbitos (NUCCI, 2013a). Nos mesmos moldes, Santolaya e cols publicaram um estudo multicêntrico na população pediátrica contemplando uma casuística de 23 hospitais em 8 países. Foram estudados 302 episódios de candidemia no período de 2008 a 2010. Encontraram uma incidência de 0,81/1000 admissões, sendo 29% em neonatos. Como fatores de risco, encontraram a prematuridade, nutrição parenteral, ventilação mecânica, neutropenia, doença neurológica e uso de corticoide, com uma sobrevida de 72% nos pacientes tratados (SANTOLAYA, 2014).

Em uma publicação chilena, com uma casuística de 120 pacientes entre 2000 e 2013, foi reportada uma incidência de 0,4/1000 saídas com uma letalidade de 31,7%, sendo as espécies mais encontradas a *C.albicans* (55%), seguida de *C. glabrata* (18,3%), *C. tropicalis* (11,7%) e 9,2% de *C. parapsilosis* (SIRI, 2017).

Um estudo multicêntrico realizado no Peru, demonstrou em 158 isolados em 157 pacientes com candidemia, uma incidência de 1,01-2,63/1000 admissões e uma mortalidade de 39,6% com 72,1% de isolados de cepas não-*albicans* (RODRIGUEZ, 2017).

A rede de vigilância nacional do Uruguai reportou 0,75-1,64 casos de candidemia /1000 admissões hospitalares em 2011, com uma incidência anual de 16,4-32,8/100,000 habitantes. A candidíase peritoneal ocorreu em torno de 30% dos pacientes com candidemia, com uma incidência anual estimada de 3,69/100.000 habitantes (MACEDO-VINÃS, 2018).

Casos de candidemia na Argentina foram baseados em estudo de prevalência documentados entre novembro/2009 a outubro/2010 em três hospitais terciários na Argentina como parte de um estudo multicêntrico na América Latina (NUCCI, 2013a). A incidência de candidemia foi de 1,95 (média 1,26-2,98) por 1000 admissões e de 0,24/1000 pacientes-dia (média 0,13-0,19) assumindo que 50% dos casos ocorrem em UTI (RIERA, 2014; RIERA, 2018).

*C. auris* teve seu primeiro caso descrito na América Latina em 2016. Tratava-se de um surto em um hospital na cidade de Maracaibo na Venezuela. Foram descritos 18 casos, sendo 13 em crianças e 5 em adultos. A incidência nesse serviço era de 3,64 casos/1000 admissões e aumentou para 7,38/1000 admissões no período do surto. Todos os isolados inicialmente haviam sido identificados com *C. haemulonii* através de Vitek 2c® (BioMérieux) e através do sequenciamento da região espaçadora transcrita interna (ITS) confirmou-se que eram *C. auris*. A taxa de sobrevida foi de 72% dos pacientes apesar da alta resistência aos azólicos e MICs altos para anfotericina B e fluocitosina. A melhor atividade *in vitro* foi observada para anidulafungina (CALVO, 2016).

A mortalidade na América Latina variou de 31,7% a 59,3%; assim como os demais dados podem ser mais bem visualizados no quadro a seguir.

**QUADRO 07 – Incidência de candidemia na América Latina e distribuição de frequência por espécies**

Autor, ano de publicação	Desenho estudo	País	Incidência	DISTRIBUIÇÃO ESPÉCIES (%)						Mortalidade
				<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	Outros	
Godoy, 2003	Prospectivo 1999-2003 5 hospitais terciários	103 episódios América do Sul		42	7,7	21,3	24,2			-----
Nucci, 2013b	24 meses Estudo vigilância laboratorial	672 episódios 20 centros América Latina	1,18 / 1000 admissões	37,6		26,5	17,6			59,3%
Riera, 2014	Retrospectivo 2010-2012	158 isolados 5 hospitais Córdoba-AR		44%		22%	12%			-----
Siri, 2017	Retrospectivo (2000-2013) Hospital Universitário Santiago	120 isolados Chile	0,4/1000 saídas	55	18,3	9,2	11,7			31,7
Rodríguez, 2017	Prospectivo 3 hospitais terciários 2013-2015	158 isolados Lima- Peru	1,01- 2,63 /1000 admissões	44,3	15	40,1	39	1		39,6%
Macedo Vinãs, 2018	Vigilância 2011	Uruguai	0,75-1,64 casos / 1000 admissões 16,4-32,8 / 100.000 habitantes							

## 2.9 CANDIDEMIA NO BRASIL

O estudo de vigilância nominado “Rede Candidemia Brasil”, analisou a epidemiologia da candidemia em 11 centros médicos no Brasil e encontrou uma incidência de 2,49/1000 admissões em 712 episódios de candidemia e 0,37/1000 pacientes-dia com uma mortalidade de 54% (COLOMBO, 2006).

Outro importante estudo de vigilância conduzido em 4 centros médicos terciários entre março de 2003 a fevereiro de 2004 avaliou 7038 ICS, onde a *Candida* spp foi encontrada em 282 hemoculturas representando 4% as ICS. Nesta casuística, a incidência foi 1,66 candidemias/ 1000 admissões (COLOMBO, 2007).

Estudo conduzido entre 2003-2004 em Recife, Estado de Pernambuco, avaliou 1745 hemoculturas, encontrando 21 candidemias em 18 pacientes. A incidência foi de 3,9/1000 admissões sendo a espécie não-albicans as mais frequentes (*C. parapsilosis* 33%, *C. tropicalis* 24%). A mortalidade foi de 61%, considerada bastante elevada (HINRICHSEN, 2008).

Ainda em 2004, estudo de Antunes e cols, realizado no complexo hospitalar da Santa Casa de Porto Alegre, hospital terciário de 1200 leitos, foi realizada avaliação laboratorial de 120 candidemias no período de 2002 a 2003 e encontraram 51,6% de *C. albicans*, 25,8% *C. parapsilosis*, 13,3% *C. tropicalis*, 3,3% *C. glabrata* e 1,7% *C. krusei* e reportaram ainda uma susceptibilidade dose-dependente para fluconazol em 1,6% das cepas estudadas (ANTUNES, 2004).

Em 2008, a publicação de Xavier e cols descreve 25 episódios de candidemia em uma UTI de Hospital Universitário no Mato Grosso do Sul. Foram avaliadas retrospectivamente do período de 1998 a 2006. Encontraram 11,44% de *C. albicans* e 10,4% de *C. parapsilosis*. Os fatores de risco apontados foram 100% presença de CVC, 68% dos pacientes neonatos de baixo peso (< 1500 g) e 92% prematuridade. Nesta casuística, 76% dos casos evoluíram para óbito (XAVIER, 2008).

Em São Paulo, estudo realizado no hospital das Clínicas da FMUSP, avaliou 136 episódios de candidemia. Reportaram uma incidência de 1,87/1000 admissões com 0,27/1000 pacientes-dia. Utilizaram *e-test* (AB BIODISK, Sweden) para avaliar a susceptibilidade aos antifúngicos e os pontos de corte forma baseados no CLSI, 2008. Encontraram 25% das cepas de *C. glabrata* resistentes ao fluconazol e 50% das cepas de *C. krusei* resistentes ao fluconazol (MOTTA, 2010).

Em 2011, Marra e cols publicam 2563 casos de ICSn de um estudo prospectivo nacional chamado *Brazilian Scope (Surveillance and Control of Pathogens of Epidemiological Importance)* em 16 hospitais brasileiros. Os fungos foram responsáveis por 6,1% dos agentes identificados nas hemoculturas (MARRA, 2011).

No estudo de Nucci, em 2013, a incidência de candidemia nos hospitais brasileiros estudados foi de 1,38 episódios a cada 1.000 admissões, e teve como espécies mais frequentes *C. albicans* (40,5%), *C. parapsilosis* (25,8%), *C. tropicalis* (13,2%), *C. glabrata* (10%), *C. krusei* (4,7%) e *C. guilliermondii* (1,6%). Outras espécies foram observadas com menor frequência, é o caso de *C. intermedia*, *C. haemulonii*, *C. lusitanae*, *C. famata* e *C. norvegiensis* (NUCCI, 2013a).

Ainda em 2013, Hoffmann-Santos e cols. publicaram um estudo brasileiro de análise de seis anos de candidemia nosocomial e fatores e risco em duas UTIs no Mato Grosso (MT). Relataram 130 episódios de candidemias com uma prevalência de 1,8/1000 admissões com uma letalidade 42% e o agente mais frequentemente isolado foi *C. parapsilosis* (50%) seguido e *C. albicans* (45%). A *C. parapsilosis* foi mais prevalente na UTI neonatal (HOFFMANN-SANTOS, 2013).

Moretti e cols publicaram um estudo retrospectivo de 313 episódios de candidemia em um hospital terciário em Campinas-SP, e encontraram uma incidência de 0,54/1000 pacientes-dia, observando um aumento substancial de *C. glabrata* e ainda fortemente associada com pacientes com neoplasias ( $p=0,004$ ) e *C. krusei* com malignidades hematológicas ( $p<0,001$ ) (MORETTI, 2013).

Em 2016, Doi e cols publicaram um estudo de 2563 ICS envolvendo 16 hospitais brasileiros sendo a *Candida* spp, o sétimo agente isolado. A mortalidade foi 72,2% reforçando a importância do adequado manejo das candidemias, desde o diagnóstico precoce, controle a fonte de infecção e terapia antifúngica apropriada (DOI, 2016).

Em Ribeirão Preto-SP, a incidência relatada foi de 1,52/1000 admissões com uma mortalidade de 52% em um estudo realizado em um único centro entre 2014 e 2015 que avaliou 79 ICS causadas por *Candida* spp (CANELA, 2017).

Mattos e cols em 2017 publicaram sobre a variabilidade das espécies de *Candida* spp e emergência de cepas azol-resistentes em dois hospitais na região Centro-Oeste do Brasil. Avaliaram 221 episódios de infecção por *Candida* (não exclusivamente candidemia) com uma incidência de 1,40/1000 admissões no

hospital e 0,58/1000 admissões no hospital B. Encontraram 17,5% dos isolados com sensibilidade dose-dependente (SDD) e 17,5% com resistência total ao fluconazol (MATTOS, 2017).

Todos estes estudos foram realizados em hospitais de grande porte, terciários e localizados em grandes centros urbanos e refletem a realidade nacional da candidemia no Brasil e podem ser visualizados no quadro a seguir:

**QUADRO 08** – Incidência de Candidemia no Brasil e distribuição de frequência por espécies

Autor, ano de publicação	Desenho estudo	Hospital Cidade	Incidência	DISTRIBUIÇÃO ESPÉCIES (%)						Mortalidade
				<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	Outros	
Antunes, 2004	Estudo de vigilância laboratorial	Complexo Hospitalar Santa Casa de Porto Alegre-RS		51,6	3,3	25,8	13,3	1,7		
Aquino, 2005	Estudo de prevalência e susceptibilidade ao Fluconazol	131 episódios Hospital de Clínicas Porto Alegre-RS		45	6,9	24,4	15,3	4,6	Outros 3,8	51,9%
França, 2008	Estudo de vigilância laboratorial	100 episódios Hospital de Clínicas UFPR Curitiba-PR	1,27 / 1000 admissões	59		9	15			56%
Medrano, 2006	Centro único 2000 - 2002	4376 ICS 50 isolados <i>Candida spp</i> Fortaleza - CE	1,14 % das ICS foram por <i>Candida spp</i>	28		36	16		Outros 4 <i>C.guilliermondii</i> 12	61,9%
Colombo, 2006	Prospectivo 2003 - 2004 11 hospitais terciários	711 episódios Brasil	2,49 casos / 1000 admissões 0,37 casos / 1000 pacientes - dia	40,9	4,9	20,5	20,9	1,1	<i>C. guilliermondii</i> 2,4	54%
Girão, 2008	Centro único UTI	108 episódios São Paulo -SP	0,39-0,83 / 1000 pacientes -dia	40		18	34	1	3	76%
Motta, 2010	Retrospectivo Centro único HC - FMUSP	136 episódios	1,87 casos / 1000 admissões 0,27 casos / 1000 pacientes-dia	52,2	6,6	22,1	14,8			
Wille, 2013	Retrospectivo Estudo vigilância laboratorial	388 episódios	0,20/1000 pacientes-dia	42,5	4,4	21,9	27,3	1		55,4%
Moretti, 2013	Retrospectivo 2006 – 2010 Hospital Universitário	313 episódios Campinas-SP	0,54/1000 pacientes-dia	44	11,2	14,4	21,7			



## 2.10 CANDIDEMIA NO ESTADO DO PARANÁ

Pouco se sabe sobre as candidemias no Estado do Paraná. Um estudo epidemiológico realizado no Hospital de Clínicas da UFPR, avaliou 100 episódios de candidemia e encontrou uma incidência de 1,27/1000 internações. A média de idade dos pacientes foi de 32 anos. Este estudo apontou que as condições frequentemente associadas a candidemia foram uso de antibióticos (97%), presença de CVC (77%), uso de bloqueador H<sub>2</sub> (57%), NPT (49%), permanência na UTI (41%), terapia com corticosteroides (39%) e cirurgia abdominal (35%). As espécies encontradas foram *C. albicans* 59%, *C. tropicalis* 15%, *C. parapsilosis* 9% com uma mortalidade de 56%. Entre 51 isolados de *Candida* spp com realização de teste de susceptibilidade, encontrou-se três isolados de *C. glabrata* susceptibilidade dose-dependente ao fluconazol e resistência ao itraconazol; um isolado de *C. krusei* resistente ao fluconazol e uma *C. peliculosa* susceptibilidade dose-dependente ao itraconazol (FRANÇA, 2008).

Em 2014, Bizerra e cols descreveram um caso de candidemia de escape em um paciente de 25 anos de idade com linfoma de Burkitt que estava em uso de profilaxia com micafungina (50mg/dia). Foram obtidos cinco isolados de *Candida glabrata* a partir de hemoculturas e foram classificados como isolados multirresistentes, uma vez que todos exibiram altas MICs para equinocandinas e drogas azólicas. Uma mutação (S663F) no *hot spot* 1 do gene Fks2 foi encontrada em todos os cinco isolados. Esta mutação produziu uma enzima 1,3-D-glucan-sintetase com sensibilidades altamente reduzidas a fármacos de equinocandina. O impacto epidemiológico do uso de uma equinocandina para profilaxia em pacientes neutropênicos e desenvolvimento de isolados de *Candida* spp resistentes a múltiplos fármacos torna-se preocupante (BIZERRA, 2014).

Herckert e cols publicaram sobre a importância da susceptibilidade dos antifúngicos no papel do tratamento dos episódios de candidemia. Realizaram um estudo avaliando a sensibilidade aos antifúngicos de 80 isolados de *Candida* spp provenientes de sangue exclusivamente que estavam depositados da micoteca do Hospital de Clínicas da UFPR. Foram analisadas 27 *C. albicans*, 24 complexo *C. parapsilosis*, 8 *C. glabrata*, 7 *C. tropicalis*, 5 *C. guilliermondii*, 3 *C. krusei*, 3 *C. peliculosa*, *C. lusitaniae* e 1 *C. dubliniensis*. Encontraram 74 isolados sensíveis a anidulafungina, 5 intermediários e 1 resistente. Para micafungina, 67 isolados resistentes, 8 isolados intermediários e 5 resistentes. Todos os isolados foram

sensíveis a Anfotericina B. Em relação ao fluconazol encontrou-se 65 isolados sensíveis, 8 isolados SDD e 4 resistentes (HERKERT, 2015).

Outro estudo paranaense sobre candidemia de escape foi publicado em 2017. Trata-se de um estudo retrospectivo de 2011-2016 em pacientes com mais de 12 anos. Foram avaliados 149 candidemias, sendo que 27 episódios foram considerados como candidemia de escape (18%). A maioria dos pacientes era jovem (média 35,3 anos) gravemente imunossuprimidos, com malignidades hematológicas submetidos a transplante de células hematopoiéticas e com múltiplos fatores de risco para candidemia. Dentre os fatores de risco identificados, a presença de neutropenia e mucosite foram significantes (BREDA, 2018).

Por fim, Motta e cols publicaram sobre os fatores de risco para mortalidade em candidemia infantil. Foram avaliados 65 isolados de um único centro hospitalar infantil em Curitiba/PR. A incidência encontrada foi de 0,23 casos/1000 pacientes-dia com uma mortalidade de 32%. Choque séptico, e co-morbidades como insuficiência renal, necessidade de ventilação mecânica e diálise foram os fatores de risco associados a mortalidade (MOTTA, 2017).

## 2.11 MEDIDAS DE PROFILAXIA E PREVENÇÃO

A prevenção da CI está baseada nos fatores de risco para aquisição da infecção. Podemos dividir a prevenção em quatro pilares: 1). Relacionado aos fatores de risco do paciente; 2). Relacionados ao monitoramento epidemiológico local; 3). Relacionados às medidas de controle de infecção hospitalar como higienização das mãos e cuidados com manipulação dos dispositivos invasivos; e 4) Profilaxia medicamentosa quando pertinente.

Dentre os fatores relacionados ao paciente, a exposição aos antibióticos de amplo espectro deve ser a mais breve possível assim como a necessidade de cateteres e dispositivos invasivos deve ser reavaliada diariamente. Programas de *stewardship* de antimicrobianos devem pautar o uso racional também de antifúngicos (KOTHAVADE, 2010, VALLABHANENI, 2015).

Em 2015, Fisher e cols. publicaram um estudo sobre mortalidade e retenção de cateter em crianças. Foram avaliados 285 pacientes com candidemia e presença de cateter na Filadélfia. A espécie mais encontrada foi *C. albicans* (50%, seguida de *C. parapsilosis* 25 e *C. tropicalis* 6%). A retenção do cateter foi associada com risco aumentado de mortalidade [OR] 3,59; [IC] 95% (1,55-8,27). (FISCHER, 2015).

A Sociedade Americana de Doenças Infecciosas recomenda que o cateter seja removido especialmente quando houver suspeita de que o mesmo seja a fonte de infecção (PAPPAS, 2016).

No que tange ao risco de aquisição nosocomial, a higienização das mãos é sem dúvida a medida mais barata e efetiva para evitar as infecções hospitalares, especialmente nos ambientes de UTI e pacientes imunossuprimidos. Quando diagnosticados casos de *C. auris*, a Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) se posicionou e fez várias recomendações como precauções de isolamento de contato, limpeza e manutenção do ambiente e equipamentos com desinfetantes, cuidados na remoção dos pacientes colonizados/infectados assim como lavagem das vestimentas dos pacientes em ciclos separados dos demais (PAHO, 2016).

Biswal e cols compartilham experiências para controle do surto de *C. auris* e reforçam que a maioria das cepas de *C. auris* eram sensíveis a cinco desinfetantes testados, porém ressalta a importância da qualidade da limpeza do ambiente e do monitoramento a depender do desinfetante utilizado no serviço (BISWAL, 2017).

A retaguarda laboratorial é fundamental para pronta identificação das amostras, medidas de isolamento que forem pertinentes e também para subsidiar a terapia pré-emptiva diante de pacientes colonizados.

Profilaxia medicamentosa já foi estudada e aplica-se em algumas situações específicas com pacientes de baixo peso na neonatologia, transplante de células tronco-hematopoiéticas e transplantados de órgãos sólidos, como os de fígado, apesar de controvérsia a respeito da duração da profilaxia (KAUR, 2017).

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1. DESENHO DO ESTUDO**

Trata-se de estudo observacional multicêntrico, com coleta prospectiva de dados para determinação das características epidemiológicas e microbiológicas de episódios de candidemia em pacientes hospitalizados em 8 hospitais, durante o período de 01 de janeiro de 2016 a 31 de dezembro de 2017. As informações clínicas e epidemiológicas foram obtidas através de revisão dos prontuários e preenchimento de ficha clínica padrão (Anexo I).

A caracterização microbiológica dos isolados foi realizada a partir de amostras enviadas pelos centros aos nossos cuidados e acondicionadas no banco de microrganismos do Laboratório Especial de Micologia (LEMI) da Escola Paulista de Medicina – Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), para posterior análise.

Esta pesquisa teve aprovação pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, parecer 1.697.029 de 25 de agosto de 2016 (Anexo II).

#### **3.2. Caracterização dos hospitais**

Este estudo multicêntrico reuniu oito hospitais terciários no Estado do Paraná localizados em cinco cidades. Dos oito centros hospitalares, sete eram hospitais de ensino, terciários e com funcionamento público. A lista das instituições participantes, número de leitos, localização geográfica e caracterização dos hospitais encontram-se descritas no quadro abaixo.

**QUADRO 09** – Hospitais participantes do estudo

Hospital	Características do hospital	Rotina coleta hemocultura	Metodologia de identificação laboratorial
<b>Hospital de Clínicas da UFPR (Curitiba)</b>	Exclusivamente público. Hospital geral e oncologia para população adulta e pediátrica. Referência para TCTH e TOS. 562 (361 ativos) +62 UTI	Mínimo 2 amostras de locais diferentes 5-10 ml adulto 1-5 ml criança	Vitek-2 YST-ID CHROMAgar® <i>Candida</i>
<b>Hospital Universitário Regional Norte (Londrina)</b>	Exclusivamente público. Hospital geral e oncologia para população adulta e pediátrica. Referência para TCTH e TOS. 310 leitos +36 UTI	2 amostras periféricas e uma do cateter 8 ml adulto 2-5 ml criança	Vitek-2 YST-ID CHROMAgar® <i>Candida</i>
<b>Hospital Universitário do Oeste do Paraná (Cascavel)</b>	Exclusivamente público. Hospital geral para população adulta e pediátrica 177leitos +25 UTI +6 UTI neonatal +5 UTI pediátrica	Mínimo 2 amostras de locais diferentes. 5-10 ml adulto 2-5 ml criança	Vitek-2 YST-ID CHROMAgar® <i>Candida</i> e identificação manual
<b>Santa Casa de Misericórdia de Maringá (Maringá)</b>	Público-filantrópico Hospital geral e oncologia para população adulta e pediátrica. Referência para TCTH e TOS. 245 leitos +24 UTI+ 11 UTI neonatal/Pediátrica	Adultos: Amostras pareadas de locais diferentes (5-8 ml) Crianças: 1 ou 2 amostras (2-5 ml)	Painel Yeast- ID do equipamento Phoenix BD e CHROMAgar® <i>Candida</i> *
<b>Hospital Erasto Gaertner (Curitiba)</b>	Público. Exclusivamente oncológico para população adulta e pediátrica. Referência para TCTH e TOS. 154 leitos +10 UTI	1 ou 2 amostras por paciente. Crianças só de cateter (2-5 ml) Adultos: periférica e cateter ou 2 periféricas (5-10 ml)	CHROMAgar® <i>Candida</i> e identificação manual por teste de tubo germinativo
<b>Hospital do Câncer do Londrina (Londrina)</b>	Público. Exclusivamente oncológico. Referência para TCTH e TOS. 128 leitos +12 UTI adulto +10 UTI pediátrica	1 amostra por paciente. 5-10 ml adulto 2-5 ml criança	Vitek-2 YST-ID CHROMAgar® <i>Candida</i>
<b>Hospital do Câncer –</b>	Público-filantrópico Exclusivamente oncológico.	Mínimo 1 par. 5-10 ml adulto	Identificação manual e

<b>UOPECCAN (Cascavel)</b>	Referência para TCTH e TOS. 120 leitos+10 UTI adulto +2 UTI pediátrica	2-5 ml criança	CHROMAgar® <i>Candida</i> *
<b>Hospital Universitário dos Campos Gerais (Ponta Grossa)</b>	Público. Hospital geral. 162 leitos + +20 UTI adulto+6 UTI neonatal +5 UTI pediátrica	Mínimo 2 amostras de locais diferentes 8 ml adulto 1-2 ml criança	Vitek-2 YST-ID CHROMAgar® <i>Candida</i> e identificação manual

TCTH: Transplante de células tronco hematopoiéticas; TOS: transplante de órgão sólido; \*, CHROMAgar® *Candida* quando disponível.

### 3.3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos os cem primeiros casos de candidemia ocorridos nos hospitais participantes, durante o período do estudo. Para diagnóstico de candidemia, o paciente deveria ter apresentado pelo menos uma hemocultura positiva para espécies de *Candida* spp coletada a partir de punção venosa periférica, após assepsia adequada, ou, eventualmente, por acesso venoso central. Somente o primeiro episódio de candidemia foi considerado para caracterização clínica e laboratorial dos casos. Os indivíduos foram categorizados em faixas etárias sendo considerados recém-nascidos (até 28 dias), crianças até 18 anos, adultos os indivíduos com idade entre 19 e 59 anos, e idosos os indivíduos com idade igual ou superior a 60 anos. A população pediátrica foi ainda dividida entre: recém-nascidos: até 28 dias; lactentes: entre 28 dias a 2 anos; crianças: entre 2 e 12 anos, adolescentes: entre 12 e 18 anos, conforme o Estatuto da criança e do adolescente, LEI 8069, 1990, Brasil.

Nenhum critério de exclusão foi utilizado.

### 3.4. Caracterização clínica e epidemiológica dos pacientes

A coleta das informações foi realizada por um profissional treinado pela pesquisadora e designado para realizar a coleta em cada centro, utilizando o questionário criado para este projeto. A coleta de dados foi conduzida prospectivamente, a partir da identificação dos casos de candidemia em cada centro.

As informações foram coletadas através dos prontuários médicos, checando-se as evoluções médicas e anotações da enfermagem. Os pacientes foram acompanhados durante sua internação desde a identificação da candidemia até 30 dias (alta ou óbito) após a fungemia.

A ficha clínica padrão, denominada instrumento de coleta de dados, (Anexo II) compreendia informações referentes a 55 variáveis, divididas em 9 seções: 1) informações demográficas; 2) informações microbiológicas; 3) informações sobre hospitalização; 4) história patológica pregressa; 5) informações neonatais; 6) informações clínicas; 7) informações sobre cateteres; 8) história de medicação e 9) informação sobre evolução.

#### 3.4.1. Informações demográficas

As variáveis documentadas nesta seção foram: idade, gênero, raça e hospital de origem.

#### 3.4.2. Informações microbiológicas

As variáveis documentadas nesta seção foram: data da coleta da candidemia incidente, a espécie da *Candida* spp isolada no hospital de origem e o local da coleta da hemocultura (sangue periférico, cateter ou ambos). Presença de infecção bacteriana associada durante ou antes da candidemia também foram estudadas. O método de identificação e isolamento das amostras no hospital de origem foram fornecidos pelos profissionais microbiologistas de cada hospital. O número total de candidemias ocorridos nos dois anos serviu de base para cálculo das incidências. As taxas de incidência foram calculadas tendo como denominadores 1.000 admissões hospitalares, sendo determinada ainda a taxa de fungemia por 1.000 pacientes-dia.

#### 3.4.3. Informações sobre hospitalização

Nesta seção verificou-se a data de admissão e data de alta do paciente, bem como o local de internação: enfermaria clínica, enfermaria cirúrgica, unidade de transplante, setor de diálise, Unidade Neonatal, Pediatria, Setor de emergência ou UTI e ainda o tipo de UTI (geral, clínica, cirúrgica, neonatal, pediátrica ou cardíaca).

#### 3.4.4. História médica pregressa

Nesta seção foram avaliadas as comorbidades presentes à época da candidemia incidente com o objetivo de se obter informações sobre problemas médicos ativos do paciente nos três meses precedentes à candidemia incidente.

As comorbidades foram distribuídas nas seguintes categorias: neoplasias, transplantes, síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), doença cardíaca, doença pulmonar, doença hepática, diabetes mellitus, insuficiência renal, doença imunológica, doença neurológica, e neutropenia. Caso o paciente apresentasse outra doença, esta era assinalada e caracterizada separadamente. As doenças crônicas foram



consideradas apenas as com sintomatologia e com terapêutica específica nesta internação. As neoplasias foram categorizadas em tumores sólidos e hematológicas.

Foi ainda avaliado se o paciente havia sido submetido a alguma cirurgia (até 2 meses antes da candidemia incidente): abdominal, cardio-torácica, genito-urinária, ginecológica, neurológica, ortopédica, vascular ou trauma.

A neutropenia foi definida como contagem absoluta de neutrófilos  $< 500$  células/mm<sup>3</sup> e se a mesma era profunda ( $< 100$  neutrófilos/mm<sup>3</sup>) ou não.

#### 3.4.5 Informações neonatais:

Informações sobre o parto (quando RN) foram coletadas como idade gestacional no momento do parto e peso do RN ao nascer.

#### 3.4.6 Informações clínicas:

Esta seção analisou os dados clínicos do paciente no momento da candidemia incidente ou até 24 horas antes da data da candidemia incidente referentes à presença de sinais clínicos de sepse: 1) Febre: presença de febre foi caracterizada como medida de temperatura axilar  $\geq 37.8^{\circ}$  C; 2) Ventilação mecânica: se o paciente foi submetido a ventilação mecânica durante esta internação; 3) Nutrição Parenteral: se o paciente recebeu nutrição parenteral total durante esta internação e por quantos dias (inclusive para os pacientes com internação  $> 30$  dias); 4) Diálise: se o paciente foi submetido a terapia renal substitutiva durante a hospitalização e qual o tipo de diálise; 5) Escore KARNOFSKY: permitiu classificar o paciente de acordo com sua capacidade funcional e estabelecer prognóstico (foi realizado pelo observador segundo os critérios estabelecidos); 6) Cálculo do escore APACHE II (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*) também foi coletado (quando disponível) utilizando-se os valores mais altos e mais baixos do dia da candidemia incidente ou até 48 horas antes.

### 3.4.7 Informações sobre cateteres venosos em posição central

O objetivo desta seção foi identificar se o paciente tinha cateteres vasculares em posição central, se o cateter central foi removido por ocasião do episódio da candidemia e se a cultura havia sido coletada através do cateter central. Ainda se pesquisou em que local estava inserido o cateter, se o cateter central era de curta ou longa permanência. Observou-se ainda se o cateter central foi encaminhado para cultura, qual foi o agente foi identificado. Foi considerado cultura positiva do cateter central quando foi removido com técnica asséptica e positividade de  $> 15\text{ufc}$  através da técnica semi-quantitativa de Maki (MAKI, 1977). Foram analisados somente os dados do primeiro cateter inserido. Não foi analisado quanto tempo após o diagnóstico de candidemia o cateter foi retirado.

### 3.4.8 História de exposição a medicamentos

Nesta seção foi analisado se o paciente fez uso de medicações antimicrobianas, corticosteróides sistêmicos, drogas imunossupressoras, quimioterapia, terapia antirretroviral e bloqueadores  $\text{H}_2$  no período de 14 dias antes da data da candidemia incidente.

Sobre o uso de antibióticos, foi contabilizado o número de antibióticos utilizados durante a internação de forma sequencial.

O uso de antifúngicos foi analisado desde os 14 dias prévios à detecção da candidemia incidente até 30 dias após. A administração de antifúngico prévio foi classificada em profilática, empírica ou para o tratamento de uma infecção diferente deste episódio de candidemia. A administração de antifúngicos após a candidemia incidente foi considerada como terapêutica coletando-se informações sobre o medicamento utilizado, a data de início e a data da última dose.

### 3.4.9 Informações sobre a evolução

Com relação à evolução, todos os pacientes foram seguidos até 30 dias após a data da candidemia atual (alta ou óbito). Foram ainda coletados dados sobre o tipo de tratamento realizado para candidemia incidente.

### 3.5 CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS AMOSTRAS DE *CANDIDA* SPP

A identificação de espécies de *Candida* isoladas ao longo do estudo foi feita em duas etapas: 1- identificação inicial pelos laboratórios de rotina das instituições parceiras; 2- identificação por análise do perfil proteico das leveduras por técnica de espectrometria de massas (MALDI-TOF).

O processamento inicial das amostras de leveduras isoladas de pacientes com candidemia que foi realizado nos laboratórios dos hospitais das cinco cidades participantes deste estudo foi baseado na combinação de 3 estratégias: 1- utilização de meio cromogênico comercial (CHROMAgar® *Candida*, Difco Laboratories, Detroit, MI) para confirmação de pureza das amostras e *screening* inicial de *C. albicans*/*C. dubliniensis*; 2- análise de micromorfologia das colônias para definição de gênero *Candida* e *screening* de *C. albicans*/*C. dubliniensis*; 3- Testes comerciais para análise de perfil de assimilação de açúcares e outros testes bioquímicos relevantes para a constituição de chave de identificação de espécie e/ou comparação dos resultados com banco de dados do sistema comercial, permitindo identificação de espécies (SIDRIN, 1999; BioMérieux, 2008; BD Phoenix, 2008; PINCUS 2007).

A caracterização micromorfológica das leveduras foi feita pelo cultivo em ágar fubá com Tween 80, permitindo a visualização ao microscópio de estruturas características das leveduras como os blastoconídios, pseudo-micélio, micélio e clamidoconídios. A presença destas estruturas e o seu arranjo e forma foram utilizados para a confirmação do gênero *Candida* bem como para fornecer informações micromorfológicas requeridas por chaves de identificação de espécies deste gênero (SIDRIN, 1999; DE HOOG, 2001).

Os testes de assimilação de nutrientes foram realizados pelos seguintes sistemas comerciais: VITEK2 YST-ID (Biomérieux, França) e Painel Yeast ID (BD, EUA). Em todos eles, os ensaios foram realizados rigorosamente de acordo com as normas do fabricante.

Após a identificação inicial dos isolados do gênero *Candida* realizada no centro de origem, os isolados foram armazenados em água destilada esterilizada, mantidos em condições ambientais por períodos de 3 a 4 meses e encaminhadas ao laboratório de pesquisa do Hospital Universitário do Oeste do Paraná. Uma vez recebidos os isolados, os mesmos foram cultivados e recondicionadas em tubos *Eppendorf* com glicerol e encaminhadas em temperatura ambiente ao Laboratório Especial de

Micologia da UNIFESP (LEMI), para posterior identificação acurada de espécies e testes de susceptibilidade a antifúngicos.

Uma vez recebidos no LEMI, os isolados foram novamente semeados em meio cromogênico CHROMagar®– Candida (Difco Laboratories-Detroit, MI) para confirmação da pureza dos isolados e identificação presuntiva de espécies *C. albicans*/*C. dubliniensis*. Na sequência, as amostras foram identificadas em nível de espécie por técnica de espectrometria de massas (MALDI-TOF), utilizando o aparelho Microflex LT, utilizando o FlexControl software (versão 3.0, Bruker Daltonics, EUA). Leitura das massas foi realizada no intervalo de 2.000 a 20.000Da obtidos em modo linear com 40 disparos de laser UV com uma velocidade de repetição de 20 Hz por poço, e a calibração do aparelho foi realizada proteínas ribossomais de *Escherichia coli* conforme instruções do fabricante. A extração proteica foi realizada por ácido fórmico a 25% (OLIVEIRA, 2015), e a ionização do material foi realizada com solução de ácido *alfa*-ciano-4-hidroxicinâmico.

Uma vez obtido o perfil proteômico do microorganismo, este perfil foi comparado com os perfis proteicos disponíveis no banco de dados Biotyper 3.1 (Bruker Daltonics, EUA), utilizando como critério de identificação acurada valores de classificação de espécie 2.300 – 3.000.

Entretanto, para a caracterização de espécies cuja identificação não foi possível pela espectrometria de massas (N=11) utilizou-se método moleculares baseado em amplificação e sequenciamento de região ITS de rDNA para a correta identificação.

A metodologia completa da identificação molecular está descrita no anexo III.

### 3.6. TESTES DE SUSCEPTIBILIDADE *IN VITRO* DOS ISOLADOS DE *CANDIDA* SPP. AOS ANTIFÚNGICOS.

Os testes de sensibilidade de *Candida* a antifúngicos foram realizados pelo método de microdiluição em caldo, de acordo com as normas de padronização do CLSI – *Clinical and Laboratory Standards Institute*, de acordo com o documento M27-A3 4<sup>th</sup> Ed. Os isolados de *C. parapsilosis* (ATCC 22019) e *C. krusei* (ATCC 6258) foram incluídas em todos os ensaios para controle de qualidade dos mesmos. Os seguintes antifúngicos (pó puro para análise) foram utilizados nestes ensaios: fluconazol, voriconazol, anidulafungina e anfotericina B. Os antifúngicos fluconazol, voriconazol e anfotericina B foram adquiridos pela Sigma pharma medicamentos e anidulafungina foi

fornecida pela Pfizer. As concentrações finais dos fármacos testados seguiram as recomendações do CLSI:

Fluconazol: 0,125 – 64 µg/mL

Voriconazol: 0,03 – 16 µg/mL

Anidulafungina: 0,03 – 16 µg/mL

Anfotericina B: 0,03 – 16 µg/mL

As placas contendo diferentes diluições de antifúngicos foram preparadas e congeladas por períodos máximos de até 3 meses. No dia dos experimentos, soluções-padrão de inóculos a serem testados foram preparados com a ajuda de espectrofotômetro para obter concentração final de inóculo da ordem de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^5$  células/mL. Na sequência, alíquotas do inóculo foram distribuídas em placas de microdiluição contendo as diferentes concentrações de antifúngicos diluídas em meio RPMI 1640, tamponado em pH 7.0 com o tampão extra-celular MOPS (**4-Morpholinepropanesulfonic acid**), sendo as placas incubadas a 35°C por 24 horas.

Após o período de incubação, as leituras visuais dos ensaios foram realizadas para identificar-se a menor concentração de triazólicos e equinocandina capazes de inibir 50% de crescimento do isolado testado em relação ao controle (não exposto ao antifúngico). Para ensaios com anfotericina B buscou-se identificar a menor concentração de fármaco capaz de inibir 100% do crescimento do inóculo.

### 3.7 ANÁLISE DOS RESULTADOS DOS VALORES DE CONCENTRAÇÕES INIBITÓRIAS MÍNIMAS (CIMS) GERADOS COM OS 4 ANTIFÚNGICOS TESTADOS CONTRA OS ISOLADOS DE *CANDIDA* SPP.

A distribuição dos valores de CIM para os 4 antifúngicos foi caracterizada em função das seguintes variáveis:

- 1) Variação dos valores, representando o limite inferior e superior das CIMs de cada antifúngico, referentes às diferentes espécies de leveduras testadas;
- 2) CIM<sub>50</sub> definida como a concentração inibitória mínima de antifúngico capaz de inibir o crescimento de 50% das amostras testadas;
- 3) CIM<sub>90</sub> definida como a concentração inibitória mínima de antifúngico capaz de inibir o crescimento de 90% das amostras testadas.

Por final, utilizando-se os valores de “*breakpoints clínicos*” estabelecidos pelo CLSI, descreveu-se a porcentagem de isolados considerados sensíveis, intermediários/susceptibilidade dose-dependente, resistentes aos 4 antifúngicos testados (CLSI M27-A3,2017).

### 3.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA DO BANCO DE DADOS

Todas as informações referentes aos pacientes foram armazenadas em banco de dados utilizando o programa Excel e programa SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versão 25.0.0.0 for Windows - Corp. Chicago, USA).

Variáveis contínuas foram descritas como média  $\pm$  desvio padrão e mediana. Testes aplicados nas variáveis contínuas foram Mann-Whitney e quando aplicáveis, Teste exato de Fisher para comparar variáveis categóricas. A análise dos dados foi realizada através da frequência relativa e medidas para as variáveis quantitativas. A análise inferencial das variáveis quantitativas baseou-se na determinação de associação utilizando-se o teste Qui-quadrado de Pearson ( $X^2$ ) ou o Teste exato de Fischer quando a suposição para aplicar  $X^2$  não fosse satisfeita.

Análise de regressão logística foi usada para avaliar relação entre mortalidade e variáveis independentes. As variáveis independentes foram expressas através de sua razão de risco (“*odd ratio*”) e os seus respectivos intervalos de confiança de 95% foram estimados.

Todas as probabilidades de significância apresentadas foram do tipo bilateral e realizadas considerando um nível de significância de 0,05 ou 5%. Os cálculos estatísticos foram realizados através do SPSS versão 25.0.0.0.

Para análise de sobrevida, foi utilizado teste *log rank test* através do programa STATA/SE versão 15.1.

## 4 RESULTADOS

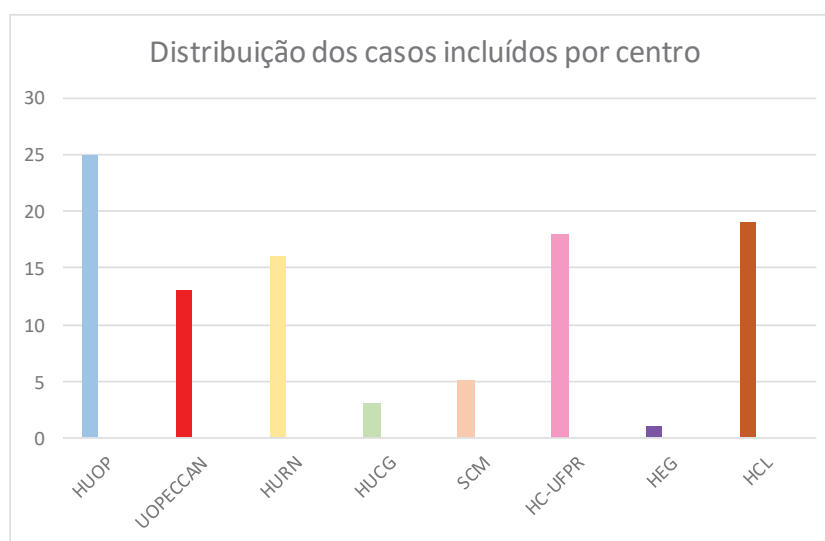
Foram incluídos os 100 primeiros casos do banco de dados coletados durante o período compreendido entre 1 janeiro de 2016 a 31 de dezembro de 2017.

No período de 2 anos (2016 e 2017) foram identificados 274 episódios de candidemia nos 8 centros participantes (Tabela 3).

A distribuição dos casos dos centros participantes ocorreu conforme os casos foram incluídos no banco de dados *on-line* e que estão demonstrados na tabela abaixo e podem ser melhor visualizados no gráfico 1.

**TABELA 1** – Distribuição dos casos incluídos por centro participante

Centro participante	Total de casos (2016 e 2017)	Casos incluídos N (%)
Hospital Universitário do Oeste do Paraná- Cascavel (HUOP)	40	25 (62,5)
Hospital do Câncer-UOPECCAN- Cascavel	26	13 (50)
Hospital Universitário Regional Norte –Londrina (HURN)	69	16 (23,1)
Hospital Universitário dos Campos Gerais-Ponta Grossa (HUCG)	7	3 (42,8)
Santa Casa de Maringá-Maringá (SCM)	12	5 (41,6)
Hospital de Clínicas UFPR-Curitiba (HC)	57	18 (31,5)
Hospital Oncológico Erasto Gaertner-Curitiba (HEG)	28	1(3,5)
Hospital do Câncer de Londrina (HCL)	35	19 (54,2)
Total	274	100

**GRÁFICO 1** - Distribuição dos casos de candidemia por centro participante durante 2016 e 2017.

HUOP: Hospital Universitário do Oeste do Paraná em Cascavel; UOPECCAN: Hospital do Câncer de Cascavel; HURN: Hospital Universitário Regional Norte de Londrina; HUCG: Hospital Universitário dos Campos Gerais em Ponta Grossa; SCM: Santa Casa de Maringá; HC-UFPR: Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná em Curitiba; HEG: Hospital Erasto Gaertner em Curitiba; HCL: Hospital do Câncer de Londrina.

#### 4.1. Densidades de incidências

A Tabela 2 apresenta os dados referentes as admissões, total de pacientes-dia, total de candidemias, a incidência geral e por 1000/pacientes-dia de cada centro nos anos de 2016 e 2017.

**TABELA 2** – Incidência de candidemia geral e incidência/1000pacientes-dia por hospital nos anos de 2016 e 2017.

ANO	2016				2017			
Hospital	Admissões	Pcte-dia	Candidemias	Incidência geral e Incidência /1000pact-dia	Admissões	Pcte-dia	Candidemias	Incidência geral e Incidência /1000pcte-dia
1	12.282	77.067	25	0,3/2,0	13.391	64.918	15	0,2/1,1
2	6.070	25.711	13	0,5/2,1	7.023	28.161	13	0,4/1,8
3	21.762	86.666	34	0,3/1,5	18.551	88.394	35	0,3/1,8
4	7.203	28.041	4	0,1/0,5	13.696	33.500	3	0/0,2
5	18.374	90.106	7	0/0,3	33.962	87.105	5	0,1/0,1
6	15.461	114.194	36	0,3 /2,3	15.379	109.725	21	0,1/1,3
7	11.260	44.725	17	0,3/1,5	12.312	48.596	11	0,2/0,8
8	10.117	39.434	24	0,6/1,5	10.190	40.235	11	0,2/1
<b>TOTAL</b>	<b>102.529</b>	<b>500.944</b>	<b>160</b>	<b>1,56/0,3</b>	<b>124.504</b>	<b>500.634</b>	<b>114</b>	<b>0,9/0,22</b>

**Legenda:** 1-Hospital Universitário do Oeste do Paraná. 2- Hospital do Câncer-UOPECCAN, 3-Hospital Universitário Regional Norte de Londrina, 4-Hospital Universitário de Ponta Grossa, 5-Santa Casa de Maringá 6-Hospital de Clínicas de Curitiba, 7-Hospital Erasto Gaertner, 8- Hospital do Câncer de Londrina.



A taxa de candidemia foi de 0,27/1000 pacientes-dia e a densidade de incidência geral foi de 1,2/1000 admissões hospitalares e estão demonstradas na tabela 3.

**TABELA 3** – Incidência geral e Incidência/1000 pacientes-dia

	2016	2017	Total
Admissões	102.529	124.504	227.033
Pacientes-dia	505.944	500.634	1.006.578
Total candidemias (8 centros)	160	114	274
Incidência /1000 pacientes-dia	0,31	0,22	0,27
Incidência geral/1000 admissões	1,56	0,9	1,20

#### 4.2. CARACTERÍSTICAS GERAIS DA POPULAÇÃO

Dentre os 100 pacientes, 56 (56%) eram do gênero masculino e 74% eram brancos (Tabela 6). A faixa etária dos pacientes compreendeu pacientes de 0 a 89 anos, com 30 crianças e 70 adultos. A média de idade geral foi de 40,02 anos com uma mediana de 46 anos. A média de idade das crianças foi de 27,8 meses (desvio padrão = 31 meses) e mediana 7,5 meses. A distribuição dos casos por faixa etária e sexo encontra-se na tabela 4.

Tabela 4. Distribuição dos casos por sexo, idade e faixa etária

N=100	
<b>SEXO</b>	
MASCULINO	56
FEMININO	44
<b>FAIXA ETÁRIA</b>	
<b>CRIANÇAS</b>	<b>30</b>
- 0-29 DIAS (RN)	4
- 29 DIAS – 2 ANOS (LACTENTES)	11
- 2 ANOS-12ANOS (CRIANÇAS)	12
- 13-18 ANOS (ADOLESCENTES)	3
<b>ADULTOS (&gt;18 ANOS)</b>	<b>70</b>
<b>DISTRIBUIÇÃO POR RAÇA</b>	
- BRANCO	74
- NEGRO	4
- MULATO	5
- ÍNDIO	1
- PARDO	1
- NÃO INFORMADO	15
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>

RN= recém-nascido (até 28 dias); LACTENTES: 29 dias até 2 anos; CRIANÇA: 2-12 anos; ADOLESCENTE: 12-18 anos. (Estatuto da criança e do adolescente, 2009).

#### 4.3. Apresentação clínica dos casos de candidemia e condições associadas a candidemia

A principal patologia de base foi o câncer (37%), sendo que 14 pacientes tinham neoplasias hematológicas e 23 eram portadores de tumores sólidos. As neoplasias hematológicas referidas foram: LMA (5), LLC (3), LLA (3) LNH (2) e LMC (1).

Os tumores sólidos descritos foram: gástrico (7), cabeça e pescoço (3), fígado (2), neurológico (2), ginecológico (2), ósseo, próstata, seio endodérmico, mama, bexiga, meduloblastoma e rabdomiossarcoma com um de cada.

Sobre condições médicas associadas, 52% dos pacientes haviam sido submetidos a cirurgias, sendo a topografia abdominal reportada em 26 pacientes e a maior parte dos pacientes encontrava-se internada em UTI (51%) seguido de pacientes internados em enfermaria clínica, conforme demonstrado na tabela 5.

Dentre o grupo de crianças estudadas (N=30), quatro foram estratificados como RN. A idade gestacional média foi de 28,6 semanas e o peso médio foi de 891 gramas. Gastrosquize foi reportada em apenas um RN e nenhuma malformação congênita foi relatada.

Sinais clínicos como febre esteve presente em 74%. A ventilação mecânica foi realizada em 40% e diálise em 20% durante a internamento, nutrição parenteral foi reportada em 36% dos pacientes e uso de drogas vasoativas em 48%. Uso de bloqueadores H<sub>2</sub> foi observado em 46%, o uso de corticosteróides em 36% e imunossupressores em 14%, Quimioterapia foi realizada em 20% dos pacientes e observou-se 16% de pacientes com neutropenia (Tabela 5).

Trinta e sete por cento dos pacientes apresentaram bacteremia associada até 14 dias antes da candidemia, sendo que 29 bacteremias ocorreram antes da candidemia e 8 ocorreram no mesmo dia do diagnóstico da candidemia.

O uso de antifúngicos prévios ao episódio de candidemia foi observado em 21 pacientes, sendo em 16 pacientes de forma profilática ou empírica e os outros cinco pacientes receberam para tratamento de outras infecções fúngicas associadas. Os antifúngicos prescritos antes do episódio de candidemia por ordem de frequência foram: 11% fluconazol, 4% equinocandinas, 2% voriconazol e em 4% não foi informado o antifúngico prescrito.

O uso de antibióticos durante a internação ocorreu em noventa e quatro pacientes e a quantidade dos antibióticos prescritos pode ser visualizada na tabela 5 também.

**TABELA 5** – Apresentação clínica e fatores de risco para candidemia

<b>Doenças de base na população estudada</b>	<b>N (%)</b>
Câncer	37
- Neoplasia hematológica	14
- Tumor sólido	23
HIV/Aids	02
Diabetes	12
Doença cardíaca	07
Doença hepática/cirrose	03
Insuficiência renal	10
Doença auto-imune	01
Doença neurológica	03
Doença pulmonar	11
Cirurgia	52
- abdominal	26
- cardio-torácica	05
- genito-urinária	06
- ginecológica	02
- neurológica	06
- ortopédica	03
- cabeça/pescoço	01
- vascular	03
- não informado	01
<b>Local da internação no momento da candidemia</b>	
UTI	51
Enfermaria clínica	16
Enfermaria cirúrgica	13
Emergência	06
Pediatria	11
TCTH	03
<b>Sinais clínicos e laboratoriais</b>	
Febre	74%
Bacteremia	37
Neutropenia	16
<b>Terapias de suporte</b>	
Drogas vasoativas	48
Ventilação mecânica	40
Nutrição parenteral	36
Diálise	20
- Hemodiálise	18
- Peritonia	02
<b>Medicações</b>	
Bloqueador H <sub>2</sub>	46
Corticosteróides	36
Imunossupressores	14
Quimioterápicos	20
Antifúngico prévio	21
- Profilático ou empírico	16
- Tratamento de outra doença fúngica	05
Antibióticos	94
- 1-2 antibióticos	28
- 3-4 antibióticos	46
- 5-6 antibióticos	14
- Mais do que 7 antibióticos	06

TCTH= Transplante de células tronco-hematopoiéticas.

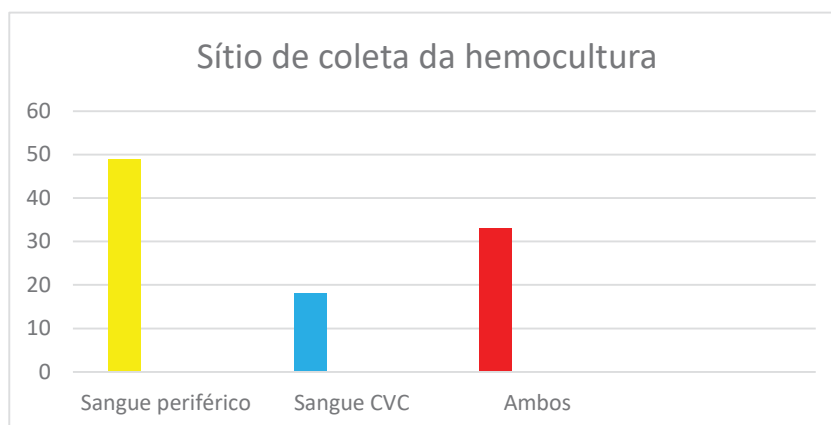
Para caracterizar a gravidade do comprometimento clínico dos casos incluídos, escores de APACHE e escala de Karnofski foram calculados. Dos pacientes que estavam internados na UTI, a média do escore de APACHE II foi de 22 refletindo o risco de mortalidade em 22% nas primeiras 24 horas considerando apenas o *score* aplicado. Ao se comparar o desfecho entre os grupos que tiveram alta e que evoluíram para óbito, observou-se que a média do APACHE II entre os grupos foi de 23 e 22 respectivamente, não se observando diferença estatisticamente significativa ( $p=,970$ ).

Quanto a escala do *Karnofsky Performance Status (KPS)*, foi registrado em apenas 34 pacientes e teve uma média de 36%.

#### 4.4 Sítio de coleta das hemoculturas:

Sobre o sítio de coleta da hemocultura para realização do diagnóstico de candidemia, foi observado que em 49% o diagnóstico foi realizado através de amostra de sangue coletada em veia periférica, em 18% através de sangue coletado via CVC e em 33% a hemocultura foi positiva em ambas (sangue periférico e do cateter) como pode ser visualizado no gráfico 2.

**GRÁFICO 2** – Distribuição do diagnóstico de candidemia pelo sítio de coleta da hemocultura



#### 4.5. Informações relacionadas a cateteres vasculares em posição central

O acesso vascular central durante a internação foi reportado em **93%** dos pacientes. Alguns pacientes foram submetidos a inserção de mais de um cateter durante a internação. A maior parte dos cateteres reportados inseridos foram de curta permanência (76%) e onze eram totalmente implantados como *port-a-cath* e cateteres de Hickman.

O local de inserção dos cateteres de curta permanência foram: veia subclávia (40%), veia jugular interna (16%), PICC (cateter central de inserção periférica) 12%, umbilical (4%), femoral (3%) e flebotomia (1%).

Mais da metade dos pacientes (51%) teve seus cateteres removidos em função da candidemia. Dos cateteres retirados, 45% foram enviados para cultura com 30% de positividade (*Candida* spp. 21%, outros agentes 9%). Todos esses dados podem ser mais bem observados na tabela 6.

**TABELA 6** – Informações relativas sobre os cateteres inseridos nos pacientes com candidemia

Informações do cateter	N=100 (%)
<b>Local de inserção do cateter</b>	
<b>Curta permanência</b>	<b>76</b>
- Subclávia	40
- Jugular	16
- PICC	12
- Umbilical	04
- Femoral	03
- Flebotomia	01
<b>Longa permanência</b>	<b>11</b>
- Totalmente implantado *	11
<b>Desconhecido</b>	<b>06</b>
<b>Remoção de cateter devido a candidemia</b>	
- Sim	51
- Não	41
- Não informado	08
<b>Cultura coletada pelo cateter</b>	<b>18</b>
<b>Realização de cultura da ponta do cateter</b>	<b>45</b>
- Resultado da cultura positiva	30
- <i>Candida</i> spp	21
- Outros agentes	9

\*Hickmann, Port-a-cath. PICC= cateter central de inserção periférica

Buscando detalhar a potencial influência da manutenção do cateter sobre desfecho clínico dos pacientes estudados, observamos que o CVC foi removido devido a candidemia em 51 pacientes. Destes, 35 (68,6%) tiveram alta e dezesseis (31%) evoluíram para óbito. Entre os 41 pacientes que não tiveram seus cateteres removidos, 27(65%) evoluíram para óbito e apenas 14 (31,1%) tiveram alta.

Na análise bivariada, para avaliar associação entre retirada do cateter e óbito, obteve-se um risco relativo (RR) de 0,46 (Tabela 7).

**TABELA 7** – Relação entre a manutenção do cateter central e o desfecho

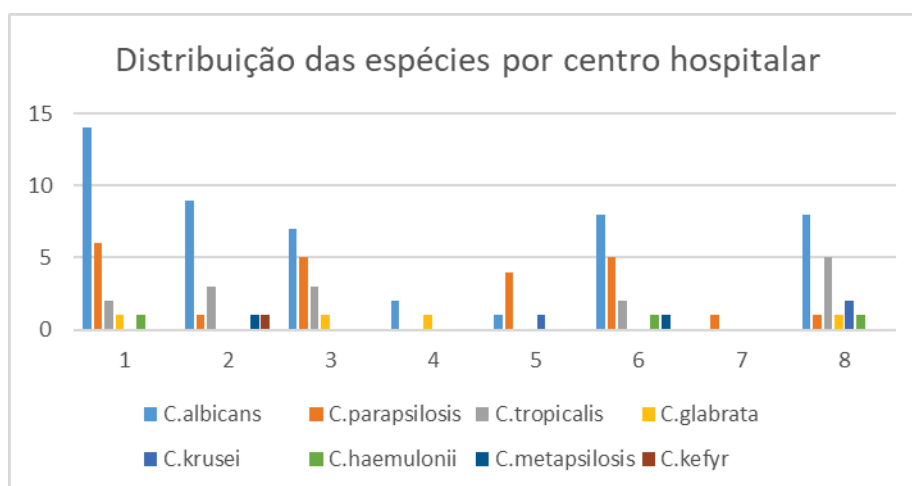
Cateter removido devido a candidemia	Altas	Óbitos	
Sim (51)	35 (68,6%)	16 (31%)	RR 0,46
Não (41)	14 (34,1%)	27 (65%)	
Não informado (08)			

RR=risco relativo.

#### 4.6. Distribuição das espécies de *Candida* spp associadas aos episódios de candidemia

A identificação final de espécies de *Candida* baseada no perfil proteômico gerado pela espectrometria de massas (MALDI-TOF MS) permitiu a caracterização adequada de oito espécies do gênero *Candida* presentes nas amostras de hemoculturas. Neste universo de amostras, *C. albicans* foi a espécie prevalente respondendo por 49 isolados (49%), seguida de *C. parapsilosis* (23%), *C. tropicalis* (15%), *C. glabrata* (4%), *C. krusei* (3%), *C. haemulonii* (3%), *C. metapsilosis* (2%) e *C. kefyr* (1%).

Grande variabilidade no padrão de prevalência de espécies de *Candida* foi encontrada nos diferentes centros estudados. Onze isolados somente foram passíveis de confirmação através de biologia molecular. A distribuição das espécies por centro hospitalar pode ser visualizada no Gráfico 3.

**GRÁFICO 3** – Distribuição das espécies de *Candida* por centro hospitalar

**Legenda:** 1-Hospital Universitário do Oeste do Paraná. 2- Hospital do Câncer-UOPECCAN, 3-Hospital Universitário de Londrina, 4-Hospital Universitário de Ponta Grossa, 5-Santa Casa de Maringá 6-Hospital de Clínicas de Curitiba, 7-Hospital Erasto Gaertner, 8- Hospital do Câncer de Londrina.

Na comparação entre a identificação presuntiva de espécies realizada no centro de origem (por sistemas comerciais baseados em micromorfologia e perfil de assimilação de colônias) com aquela fornecida pelo LEMI (MALDI-TOF-MS) observou-se taxa de 77% de concordância nos resultados.

Quando detalhamos as divergências de identificação dos isolados realizadas por laboratórios parceiros e aquela gerada pelo LEMI, observou-se que a maior divergência de identificação dos isolados ocorreu na região oeste do Estado do Paraná N=13(60,8%), seguida da região norte N=7(26,1%) e leste N=4 (13,4%), tal como ilustrado na tabela 8.

**TABELA 8** – Distribuição das espécies de *Candida* com identificação divergente por centro hospitalar (N=23)

Paciente	Hospital	Localização no Paraná	Metodologia do laboratório	Identificação origem	CHROMagar (LEMI)	MALDI-TOF/PCR (LEMI) *Biologia molecular
4	3	Norte	Vitek-2 YST-ID e CHROMagar® Candida	<i>C.glabrata</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
22	7	Leste	CHROMagar® Candida e identificação manual por tubo germinativo	<i>C.krusei</i>	<i>não-albicans</i>	<i>C.parapsilosis*</i>
24	2	Oeste	CHROMagar® Candida e identificação manual	<i>C.albicans</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
25	2	Oeste	CHROMagar® Candida e identificação manual	<i>C.famata</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
29	8	Norte	Vitek-2 YST-ID CHROMagar® Candida	<i>C.peliculosa</i>	<i>não-albicans</i>	<i>C.haemulonii*</i>
31	8	Norte	Vitek-2 YST-ID CHROMagar® Candida	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
33	1	Oeste	Vitek-2 YST-ID CHROMagar® Candida e identificação manual	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
34	1	Oeste	Vitek-2 YST-ID CHROMagar® Candida e identificação manual	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
38	1	Oeste	Vitek-2 YST-ID CHROMagar® Candida e identificação manual	<i>Candida sp.</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata*</i>
42	1	Oeste	Vitek-2 YST-ID CHROMagar® Candida e identificação manual	<i>C.parapsilosis</i>	<i>não-albicans</i>	<i>C.kefyr *</i>
48	2	Oeste	Vitek-2 YST-ID CHROMagar® Candida e identificação manual	<i>C.albicans</i>	<i>não-albicans</i>	<i>C.metapsilosis*</i>
50	1	Oeste	Vitek-2 YST-ID CHROMagar® Candida e identificação manual	<i>C.albicans</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
51	1	Oeste	Vitek-2 YST-ID CHROMagar® Candida e identificação manual	<i>C.guilliermondii</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
57	1	Oeste	Vitek-2 YST-ID CHROMagar® Candida e identificação manual	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis*</i>
69	1	Norte	Vitek-2 YST-ID CHROMagar®	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>



			Candida			
75	8	Norte	Vitek-2 YST-ID CHROMagar®	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
			Candida			
76	8	Norte	Vitek-2 YST-ID CHROMagar®	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
			Candida			
80	8	Norte	Vitek-2 YST-ID CHROMagar®	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.krusei</i>	<i>C.krusei*</i>
			Candida			
85	1	Oeste	Vitek-2 YST-ID CHROMagar®	<i>C.glabrata</i>	<i>não-albicans</i>	<i>C.haemulonii*</i>
			Candida e identificação manual			
87	2	Oeste	CHROMagar®	<i>C.albicans</i>	<i>C.tropicalis</i>	<i>C.tropicalis</i>
			Candida e identificação manual			
99	6	Leste	Vitek-2 YST-ID CHROMagar®	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.albicans</i>	<i>C.albicans</i>
			Candida			
100	1	Oeste	Vitek-2 YST-ID CHROMagar®	<i>C.glabrata</i>	<i>C.glabrata</i>	<i>C.haemulonii*</i>
			Candida e identificação manual			
101	6	Leste	Vitek-2 YST-ID CHROMagar®	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.parapsilosis</i>	<i>C.metapsilosis*</i>
			Candida			

**Legenda:** 1-Hospital Universitário do Oeste do Paraná, 2- Hospital do Câncer-UOPECCAN, 3-Hospital Universitário de Londrina, 4- Hospital Universitário de Ponta Grossa, 5-Santa Casa de Maringá 6-Hospital de Clínicas de Curitiba, 7-Hospital Erasto Gaertner, 8- Hospital do Câncer de Londrina.

Quando se avaliou a divergência de identificações dos isolados em função da prestação de serviços de microbiologia, observou-se que nove isolados (39%) foram equivocadamente identificados na origem por laboratórios prestadores de serviços terceirizados aos hospitais participantes.

#### 4.7. Resultados dos testes de susceptibilidade aos antifúngicos *in vitro* de *Candida* spp.

Os antifúngicos testados para avaliação da susceptibilidade dos isolados de *Candida* spp foram fluconazol, voriconazol, anfotericina B (Sigma®) e anidulafungina (Pfizer®), sendo que todos os ensaios foram realizados conforme recomendações pelo CLSI M27-A3,2017.

Todos os quarenta e nove isolados de *C. albicans* apresentaram sensibilidade de 100% a todos os antifúngicos testados, assim como os isolados de *C. parapsilosis* (N=23) e os isolados de *C. tropicalis* (N=15).

Sobre os isolados de *C. glabrata* (N=4), como não há valores de referência para fluconazol e voriconazol, assume-se que os quatro isolados (100%) sejam resistentes aos azólicos testados e sensíveis a anidulafungina e anfotericina B (CLSI M-60, 2017).

Os três isolados de *C. krusei* (100%) foram resistentes a fluconazol e sensíveis aos demais antifúngicos testados.

Estes dados podem ser mais facilmente visualizados na tabela 9.

**Tabela 9** – Susceptibilidade dos 100 isolados aos antifúngicos no Estado do Paraná

ESPÉCIE (N) DROGAS	S N (%)	SDD N (%)	R N (%)	MIC <sub>90</sub> (µg/ml)	MIC <sub>50</sub> (µg/ml)	VARIAÇÃO (µg/ml)
<b><i>C. albicans</i> (49)</b>						
fluconazol	49(100)	0(0)	0(0)	1	0,5	0,125-1
voriconazol	49(100)	0(0)	0(0)	0,03	0,03	0,03-0,125
anidulafungina	49(100)	0(0)	0(0)	0,03	0,03	0,03-0,03
anfotericina B	49(100)	0(0)	0(0)	1	1	0,25-1
<b><i>C.parapsilosis</i> (23)</b>						
fluconazol	23(100)	0(0)	0(0)	2	1	0,25-2
voriconazol	23(100)	0(0)	0(0)	0,03	0,03	0,03-0,06
anidulafungina	23(100)	0(0)	0(0)	0,03	0,03	0,03-0,03
anfotericina B	23(100)	0(0)	0(0)	1	1	1-1
<b><i>C.tropicalis</i> (15)</b>						
fluconazol	15(100)	0(0)	0(0)	1	1	0,5-2
voriconazol	15(100)	0(0)	0(0)	0,03	0,125	0,03-0,03
anidulafungina	15(100)	0(0)	0(0)	0,03	0,03	0,03-0,03
anfotericina B	15(100)	0(0)	0(0)	1	1	0,25-1
<b><i>C.glabrata</i> (4)</b>						
fluconazol	-	-	4(100)	8	4	4-8
voriconazol	-	-	-	0,03	0,125	0,125-0,06
anidulafungina	4(100)	-	0(100)	0,03	0,03	0,03-0,03
anfotericina B	4(100)	0(100)	0(100)	1	1	1-1
<b><i>C.krusei</i> (3)</b>						
fluconazol	-	-	3 (100)	16	16	16-16
voriconazol	3(100)	0(0)	0(0)	0,06	0,06	0,06-0,06
anidulafungina	3(100)	0(0)	0(0)	0,06	0,06	0,06-0,06
anfotericina B	3(100)	0(0)	0(0)	1	1	1

S= sensível. SDD=sensibilidade dose-dependente, R= resistente. *C.glabrata*: sem valores de referência para *breakpoints* para fluconazol e voriconazol. *C.krusei*: sem valores de referência para fluconazol (CLSI M<sup>®</sup>60).

Os testes de sensibilidade aos antifúngicos para *C. haemulonii*, *C. metapsilosis* e *C. kefyr* estão demonstrados na tabela 10. Não há referência dos padrões de corte para estas espécies conforme documento do CLSI.

**Tabela 10** – Valores de MIC dos isolados de *C. haemulonii*, *C. metapsilosis* e *C. kefyr* aos antifúngicos no Estado do Paraná

<div> <div> DROGAS </div> <div> ESPÉCIE (N) </div> </div>	<div> Fluconazol </div> <div> VARIACÃO </div> <div> MIC (µg/ml) </div>
---	--

**TABELA 11** – Distribuição da escolha terapêutica empregada (N=78)

	N=100	%
<b>Total de pacientes tratados</b>	<b>78</b>	<b>100</b>
<b>a) <u>Tratamento exclusivo</u></b>	<b>48</b>	<b>61,5</b>
<b>Equinocandinas</b>	<b>29</b>	<b>37</b>
Anidulafungina	23/29	79,3
Micafungina	5/29	17,2
Caspofungina	1/29	3,4
<b>Azóis</b>	<b>9</b>	<b>11,5</b>
Fluconazol	7/9	77,7
Voriconazol	2/9	22,2
<b>Poliênico</b>		
Anfotericina B	<b>10</b>	<b>12,8</b>
<b>b) <u>Tratamentos sequenciais</u></b>	<b>28</b>	<b>35,9</b>
Equinocandina + fluconazol	11/28	39,2
Fluconazol + equinocandina	11/28	39,2
Fluconazol + anfotericina B	1/28	3,6
Fluconazol+ equinocandina + anfotericina B	1/28	3,6
Anfotericina B + equinocandina	2/28	7,2
Anfotericina B + voriconazol	1/28	3,6
Anfotericina B + fluconazol	1/28	3,6
<b>c) <u>Tratamento realizado mas não informado</u></b>	<b>02</b>	<b>2,5</b>
<b>Pacientes não tratados</b>	<b>22</b>	<b>22</b>

Três grandes classes de antifúngicos são utilizadas como opções para tratamento de candidemia, a saber: derivados poliênicos (anfotericinas), azóis e equinocandinas.

As equinocandinas são lipopeptídeos cíclicos que inibem o complexo transmembrana glucano sintase (Fks1), uma enzima biossintética que produz o 1,3- $\beta$ -D-glucano, o principal carboidrato da parede celular dos fungos. O rompimento da síntese de 1,3- $\beta$ -D-glucano prejudica a integridade celular e leva eventualmente à ruptura e morte celular. Todas as três equinocandinas licenciadas (caspofungina, micafungina e anidulafungina) são aprovadas para o tratamento de candidíase invasiva. São fungicidas *in vitro* contra uma ampla gama de espécies de *Candida*, incluindo espécies resistentes ou tolerantes aos azólicos. *C. parapsilosis* e *C. guilliermondii* são intrinsecamente menos suscetíveis a equinocandinas, refletindo polimorfismos de ocorrência natural nas regiões de Hotspot Fks1 e só podem ser administradas por via intravenosa (BEM-AMI,2018).

As equinocandinas são a droga de escolha para tratamento das candidemias em pacientes neutropênicos e e não-neutropênicos (PAPAS,2016).

Sobre a evolução, foi pesquisado o desfecho dos pacientes com 30 dias de evolução.

Nesta casuística, observou-se 52 altas e 48 óbitos, portanto a mortalidade geral foi de 48%. A mortalidade ocorreu em 20 pacientes (41,6%) do gênero feminino em 28 no gênero masculino (58,3%), sem diferença estatisticamente significativa ( $p=,690$ ). A mediana de idade dos pacientes que evoluiu para óbito foi de 55 anos, enquanto que a dos pacientes que tiveram alta foi de 31 anos ( $p=0,009$ ).

As comorbidades pesquisadas não foram associadas a maior mortalidade.

Na análise univariada, a internação na UTI foi associada com maior mortalidade comparada aos demais locais de internação ( $p=0,010$ ) assim como ter sido submetido a ventilação mecânica ( $p=0,007$ ), ter precisado de diálise ( $p=0,036$ ) e ter necessitado de drogas vasoativas ( $p=0,002$ ). Todos esses parâmetros refletem a gravidade dos pacientes internados em UTIs.

Sobre tratamento associado, o uso de corticóide e bloqueadores  $H_2$  também esteve associado com maior mortalidade ( $p=0,022$  e  $p=0,070$ ) respectivamente (Tabela 12).

O uso de bloqueadores  $H_2$  foi referido como sendo associado à candidemia em 93% dos pacientes em um estudo no Mato Grosso do Sul e em 85 % no Paraná (HOFFMAN-SANTOS, 2013 E FRANÇA, 2008).

Em um estudo nacional, o uso de corticóide já havia sido apontado como uma condição associada à candidemia em 52% dos pacientes (HINRICHSEN, 2008) e no estudo nominado Rede Candidemia América Latina em 33,5% (NUCCI, 2013b). Ainda, o uso de corticóide e neutropenia grave foram apontados como fatores de risco para o desenvolvimento de candidemia de escape em dois hospitais terciários brasileiros (NUCCI, 2002).

**TABELA 12** – Associação do uso de medicamentos empregados e mortalidade entre os pacientes com candidemia

Medicação	Alta (%)	Óbito (%)	p
-Antibióticos	49 (52,1)	45 (47,8)	NS
-Corticosteróides	13 (36,1)	23 (63,9)	,022
-Imunossupressores	07(50)	11(55)	NS
-Quimioterapia	09(45)	11(55)	NS
- Bloqueador $H_2$	19(41,3)	27(58,7)	,070

\* Teste Exato de Fischer. NS= não significativo.

A escolha da terapêutica antifúngica empregada para tratamento não foi associada com maior mortalidade.

Na análise multivariada, apenas o uso de drogas vasoativas e remoção do cateter mantiveram diferença estatisticamente significantes ( $p < 0,005$ ).

A demora para fazer diagnóstico da candidemia foi ruim em ambos os grupos (altas *versus* óbito) e não teve diferença entre os grupos ( $p=0,462$ ). O início da terapêutica antifúngica foi de três dias no grupo dos pacientes que evoluíram para óbito e de dois dias para os pacientes que sobreviveram, sem diferença estatisticamente significativa (Tabela 13).

Este atraso no diagnóstico pode ter contribuído para alta mortalidade neste estudo, como já relatado em outros estudos (MORELL, 2005; GAREY, 2006).

**TABELA 13** – Associação entre tempo do diagnóstico e início do tratamento com mortalidade

	<b>Óbito</b>	<b>Alta</b>	<b><i>p</i>*</b>
<b>Tempo entre internação e diagnóstico de candidemia (dias)</b>	16	14,5	,462
<b>Tempo para início do tratamento (dias)</b>	3	2	,192

\*Mann-Whitney Test

O uso de antifúngicos previamente a candidemia ocorreu em 21 pacientes (16 pacientes como profilático ou empírico (76%), três pacientes para tratamento de outras IFI (14,2%) e outros dois pacientes não foi informado o motivo (9,5%).

Dos 37 pacientes onco-hematológicos, observou-se que terapêutica prévia com antifúngico ocorreu em 8 pacientes, sendo sete (43,7%) hematológicos e um (6,2%) oncológico ( $p=0,052$ , teste mid-p) demonstrando que os paciente hematológicos fazem mais profilaxia que os pacientes oncológicos (Tabela 14).

**Tabela 14** – Uso de antifúngicos prévio a candidemia

<b>Total de pacientes (100)</b>	<b>100 (%)</b>	<b>Desfecho (% óbitos)</b>	<b>OR</b>
<b>Uso de antifúngico prévio</b>	<b>21</b>		
- profilático ou empírico	16 (76)		
- tratamento de outras IFI	03(14,2)		
- não informado	02(9,5)		
<b>Uso de antifúngico profilático ou empírico</b>	<b>16</b>		<b>1,3</b>
- onco-hematológicos	7 (43,7)	6 (85%)	
- oncológicos	1 (6,2)	0	
- não onco-hematológicos	08 (50)	6 (75%)	

Dos sete pacientes hematológicos que receberam profilaxia antifúngica, seis (85%) evoluíram para óbito. O *odds-ratio* (OR) foi de 1,3.

Na tabela 15, está demonstrada a caracterização de todas as condições associadas aos episódios de candidemia, distribuição das espécies de agentes etiológicos, assim como taxas de mortalidade associadas à candidemia.

**TABELA 15** – Caracterização dos pacientes com candidemia e desfecho clínico

VARIÁVEIS PACIENTES	ALTAS N (%)	ÓBITOS N (%)	p
<b>SEXO</b>			,690*
Masculino	56 (28)	28	
Feminino	44(24)	20	
<b>IDADE (mediana)</b>	31	55	-,009 **
<b>COMORBIDADES</b>			
- Câncer (37)			,326**
-Tumor sólido (N=23)	10 (43,4)	13(56,5)	
- Neoplasia hematológica (N=14)	10 (71,4)	4 (28,6)	
<b>LOCAL DE INTERNAÇÃO</b>			
Internação em Clínica Médica (N=16)	10 (62,5)	06(37,5)	,075*
Internação em Clínica Cirúrgica (N=13)	10 (76,9)	03(23,1)	,075*
Pediatria (N=11)	09 (81,9)	02(18,1)	,53*
Internação em UTI (N=51)	20 (39,2)	31(60,8)	,010*
Emergência (N=6)	03(50)	3(50)	1
TMO (N=5)	03 (60)	02 (40)	,874***
<b>FEBRE (74)</b>	39(52,7)	35(47,3)	,824*
<b>TERAPIAS ASSOCIADAS</b>			
-Ventilação mecânica (N=40)	15(37,5)	25(62,5)	,007*
-Diálise (N= 20)	07(35)	13(65)	,036***
-Nutrição Parenteral Total (N=36)	18(50)	18(50)	1
-Droga vasoativa (N=48)	17(35,4)	31(64,6)	,002*
<b>CIRURGIA</b>			,396***
-Abdominal (N=26)	15(57,6)	11(42,3)	
-Outras (N=24)	10 (41,6)	14 (58,3)	
<b>TRATAMENTOS ASSOCIADOS</b>			
-Antibióticos (N= 94)	49(52,1)	45(47,8)	1*
-Corticosteróides (N= 36)	13(36,1)	23(63,9)	,022*
-Droga imunossupressora (N=14)	7(50)	7(50)	1*
-Quimioterapia (N=20)	9(45)	11(55)	,618*
-Bloqueador H <sub>2</sub> (N=46)	19(41,3)	27(58,7)	,070*
<b>RESULTADO MICROBIOLÓGICO</b>			
- <i>C.albicans</i> (N=49)	24(49)	25(51)	,841*
- <i>C.parapsilosis</i> (N=23)	11(47,8)	12(52,1)	,511*
- <i>C.tropicalis</i> (N=15)	07 (46,6)	08(53,3)	,791*
- <i>C.glabrata</i> (N=4)	01 (25)	03(75)	,606*
<b>TRATAMENTO (a)</b>			
-Equinocandina (N=43)	24 (55,8)	19(44,2)	,549*
-Fluconazol (N=57)	15(26,3)	42(73,7)	,053*
-Anfotericina B (N=12)	8(66,6)	4(33,4)	,220*
<b>REMOÇÃO DO CATETER</b>			0,004****
- Sim (N=51)	35(68,6)	16 (31,4)	
- Não (N=41)	14 (34,2)	27 (65,8)	
- Não informado (N=8)			

\*Teste exato de Fisher \*\* Mann-Whitney \*\*\*Qui-quadrado de Pearson, \*\*\*\*Teste de Spearman.

(a) Foram contabilizados todos os antifúngicos utilizados. Os pacientes usaram mais de um antifúngico como tratamento e as vezes em associação.

Valor de p= comparação entre as condições associadas e a mortalidade dos indivíduos com candidemia.



Sabe-se que existem particularidades da candidemia entre pacientes adultos e pediátricos, sendo assim, os pacientes com candidemia foram divididos entre dois grupos: crianças (até 18 anos) e adultos como podem ser visualizados na Tabela 16.

**Tabela 16. Comparação da candidemia entre grupo de pacientes pediátricos e adultos quanto ao regime terapêutico e a remoção do cateter**

	CRIANÇAS/ADOLESCENTES (ATÉ 18 ANOS) N=30 (%)	ADULTOS N=70 (%)	P
<b>IDENTIFICAÇÃO LABORATORIAL</b> - <i>C. não-albicans</i> (51) - <i>C. albicans</i> (49)	18 (35,3) 12 (24,4)	33 (64,7) 37 (75,6)	0,239
<b>REMOÇÃO DO CATETER</b> -SIM (51) -NÃO 41) - NÃO INFORMADO (8)	17 (33,3) 13 (31,7)	34(66,7) 28 (68,3)	0,869
<b>USO DE ANTIFÚNGICO PRÉVIO</b> -SIM (16) -NÃO (82) - NÃO INFORMADO (2)	3 (18,7) 26 (33)	13 (81,3) 55 (67)	0,344
<b>TRATAMENTO</b> -SIM (78) -NÃO (22)	25 (32) 5 (22,7)	53 (67,9) 17 (77,2)	0,218
<b>DESFECHO</b> -ALTA (52) -ÓBITO (48)	22 (42,3) 8 (16,6)	30(57,6) 40 (83,3)	<b>0,005</b>

Observou-se que quando comparado o desfecho entre o grupo de pacientes (adultos x pediátricos) a idade foi o único fator estatisticamente significante ( $p=0.005$ ).

#### 4.9 FATORES ASSOCIADOS PARA DESENVOLVIMENTO DE CANDIDEMIA POR *C. ALBICANS* e *C. NÃO-ALBICANS*

Na tabela 17, apresentamos a comparação de algumas variáveis entre o grupo de pacientes que teve candidemia por *C. albicans* e grupo de candidemias causadas por espécies não *C.albicans*, encontramos os seguintes resultados: não houve diferença entres sexo, idade, gênero assim como desfecho entre os dois grupos.

Dentre as condições associadas, o fato de ter sido submetido a cirurgia durante a internação foi estatisticamente significante, sendo que os isolados de *C. albicans* foram mais frequentes do que os isolados de *C. não-albicans* ( $p=0,029$ ) entre os pacientes cirúrgicos, porém não houve diferença estatisticamente significante se a cirurgia foi abdominal ou não.

A neutropenia foi mais frequente no grupo das candidemias por *Candida* não *albicans* (81,3%) do que no grupo *C.albicans* (18,8%),  **$p=0,015$** .

Sobre o cateter, estes foram mais removidos no grupo das *C. não-albicans* (62,7%) comparado ao grupo onde foram isolados *C. albicans* (37,3%),  **$p=0,034$** .

Em relação as medicações utilizadas durante a internação; antibióticos, corticoides, quimioterápicos ou bloqueador H<sub>2</sub>, não houve diferença entre os grupos. Já, os imunossupressores foram mais prevalentes no grupo de candidemias por *C. não-albicans* (78,6%) comparado ao grupo de *C. albicans* (21,4%),  **$p=0,046$**  assim como o uso de antifúngico prévio esteve mais associado ao grupo de candidemias por *C. não-albicans* (75%) comparado ao grupo de *Candida albicans* (25%) ( **$p=0,044$** ). Todos estes resultados podem ser visualizados na tabela abaixo.

**TABELA 17** – Caracterização dos pacientes com candidemia por *C. não-albicans* x *Candida albicans*

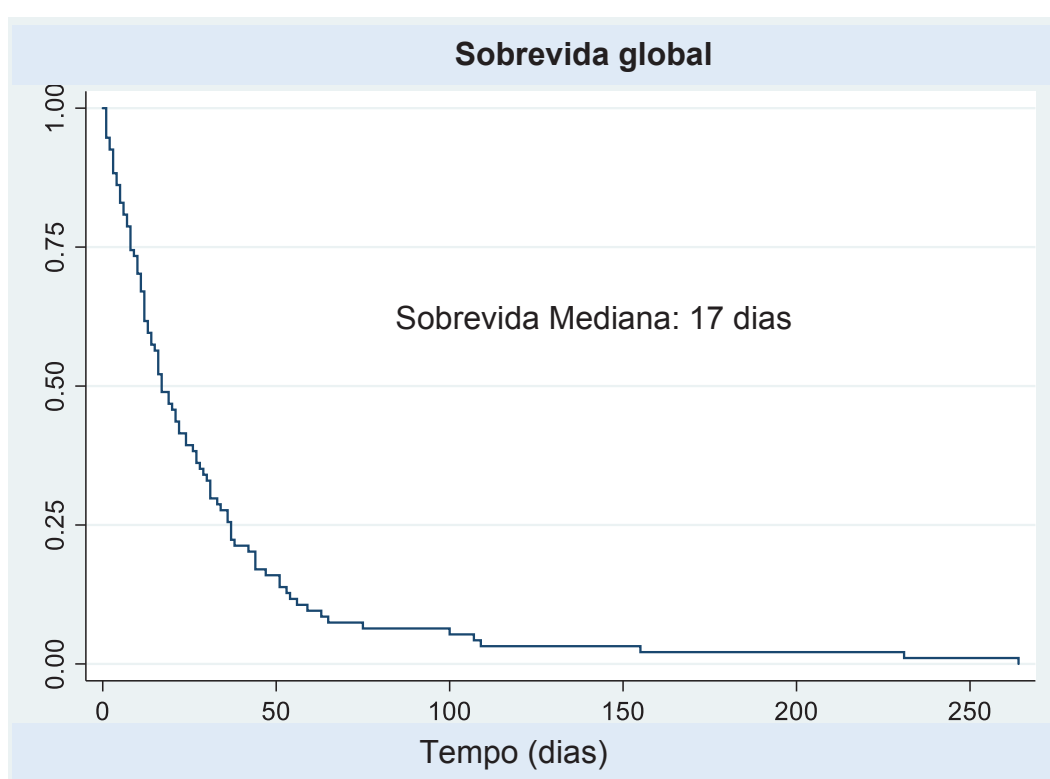
	<i>C. não-albicans</i> N=51(%)	<i>Candida albicans</i> N= 49 (%)	P
<b>Idade</b>			,584 **
-Criança até 18 anos (30)	18 (60)	11 (40)	
-Adulto até 60 anos (40)	19 (47,5)	21 (52,5)	
- > 60 anos (30)	16 (53,3)	14 (46,6)	
<b>Gênero</b>			,421*
-Feminino (44)	21 (47,7)	23 (53,3)	
-Masculino (56)	32 (57,1)	24 (42,9)	
<b>Desfecho</b>			,689*
-Alta (52)	29 (55,8)	23 (44,2)	
-Óbito (48)	24 (50)	24(50)	
<b>Local Internação</b>			,413*
-UTI (51)	30(58,8)	21(41,2)	
-Não UTI (49)	21 (42,8)	28(57,2)	
<b>Condições associadas</b>			
-Diabetes (12)	6 (50)	6 (50)	1*
-Doença pulmonar (11)	6 (54,5)	5 (45,5)	,746*
-Insuficiência renal (10)	4 (40)	6 (60)	,509*
-Câncer (37)	21(56,7)	16(43,3)	,690*
<b>Cirurgia (52)</b>	22(42,3)	30(57,7)	,029*
-Cirurgia abdominal (26)	10(38,5)	16(61,5)	1*
<b>Febre (74)</b>	38 (51,3)	36(48,6)	,651*
<b>Neutropenia (16)</b>	13(81,3)	3(18,7)	,015*
<b>Informações do cateter</b>			
-Curta permanência (76)	38(50)	38(50)	1*
-Longa permanência (11)	7(63,6)	4(36,4)	316*
-Remoção cateter devido a candidemia(51)	32(62,7)	19(37,3)	,034*
<b>Medicações</b>			
-Antibióticos (94)	49(52,1)	45(47,9)	,681*
-Corticosteróides (36)	18(50)	18(50)	1*
-Imunossupressores (14)	11(78,6)	3(21,4)	,046
-Quimioterapia (20)	14(70)	6(30)	,132
-Bloqueador H <sub>2</sub> (46)	20(43,3)	26(56,6)	,108
-Antifúngico prévio (21)	16 (76,2)	5(23,8)	,044*

\*Teste exato de Fischer, \*\* Pearson.

#### 4.10 ANÁLISES DE SOBREVIDA

Os pacientes apresentaram duração de internação de 1 a 199 dias, com uma média de 51,89 dias com desvio padrão de 4,15 e mediana de 39 dias. A mediana da sobrevida global foi de 17 dias e pode ser melhor visualizada através da curva de Kaplan-Meier no gráfico 4.

**Gráfico 4** – Demonstração da sobrevida global dos pacientes com candidemia



Em análise univariada, quando se avaliou a sobrevida entre o grupo de candidemias causadas por *Candida albicans* x *Candida* não-*albicans*, não se observou diferença estatisticamente significativa ( $p=0,791$ ) pois a média de dias foi muito semelhante entre os grupos (17 e 20 dias respectivamente), (Tabela 18).

O uso de antifúngicos previamente à candidemia, internação em UTI, identificação laboratorial (*C. albicans* x *C. não-albicans*), tipo do tratamento e remoção do cateter também foram avaliados (Tabela 18).

A sobrevida dos pacientes internados na UTI (27 dias) foi maior comparada aos pacientes que não internaram em UTI (16 dias), porém sem diferença estatisticamente significativa ( $p=0,60$ ). A sobrevida também não foi alterada em função do tratamento. A sobrevida dos pacientes que não recebeu tratamento foi de 12 dias, 19 dias para os pacientes que foram tratados com equinocandinas (incluindo os pacientes que receberam terapia sequencial com fluconazol ou anfotericina B) e 22 dias para os pacientes que receberam outros tratamentos antifúngicos ( $p=0,846$ ).

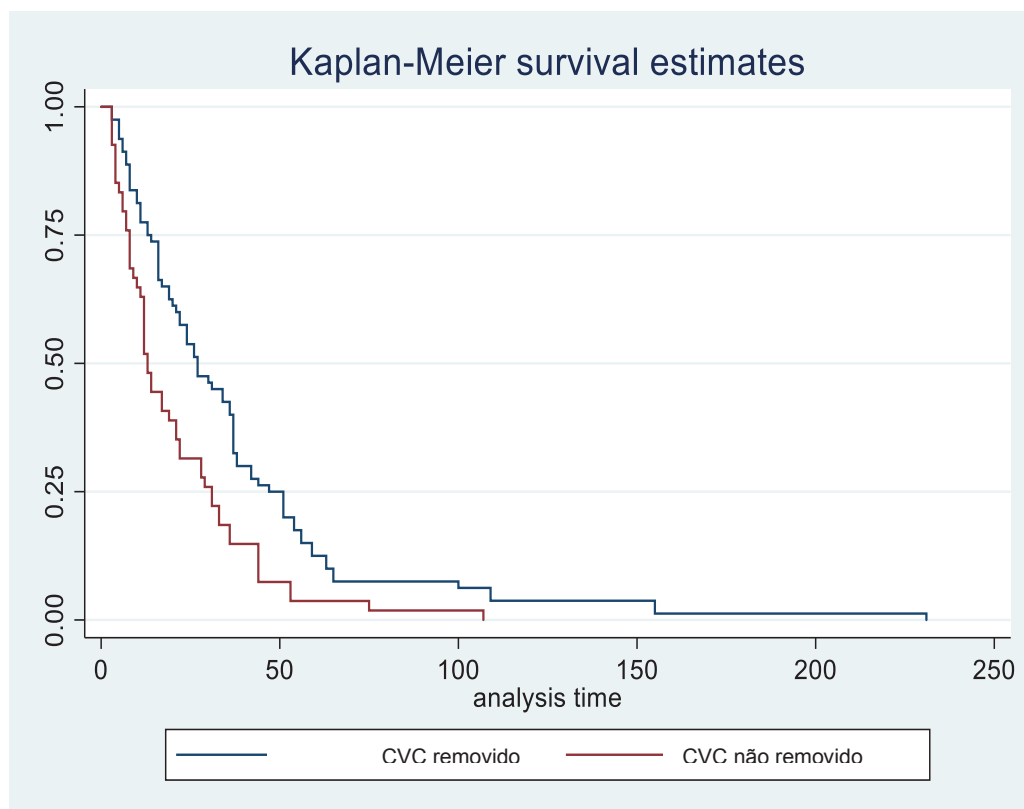
**Tabela 18** – Fatores associados e impacto na sobrevida

	N	SOBREVIDA (DIAS)	P	OR [IC]
<b>CANDIDEMIAS</b>				
- GRUPO <i>C.albicans</i>	49	17	0,469*	0,83
- GRUPO <i>C.não-albicans</i>	51	20		[0,55-1,30]
<b>USO DE ANTIFÚNGICO PRÉVIO</b>				
-SIM	16	37	0,033**	1,81
-NÃO	82	17		[1,04-3,15]
<b>INTERNAÇÃO EM UTI</b>				
-SIM	51	27	0,60*	0,95
-NÃO	49	16		[0,78-1,14]
<b>TRATAMENTO</b>				
- SEM TRATAMENTO	22	12		
- EQUINOCANDINA	55	19	0,846 **	0,95
- OUTROS	23	22		[0,79-1,53]
<b>REMOÇÃO DO CATETER</b>				
-SIM	51	27	0,029**	1,65
-NÃO	47	13		[1,05-2,60]
<b>IDADE</b>				
- CRIANÇA	30	20	0,486**	1,17
- ADULTO	70	16		[0,75-1,82]

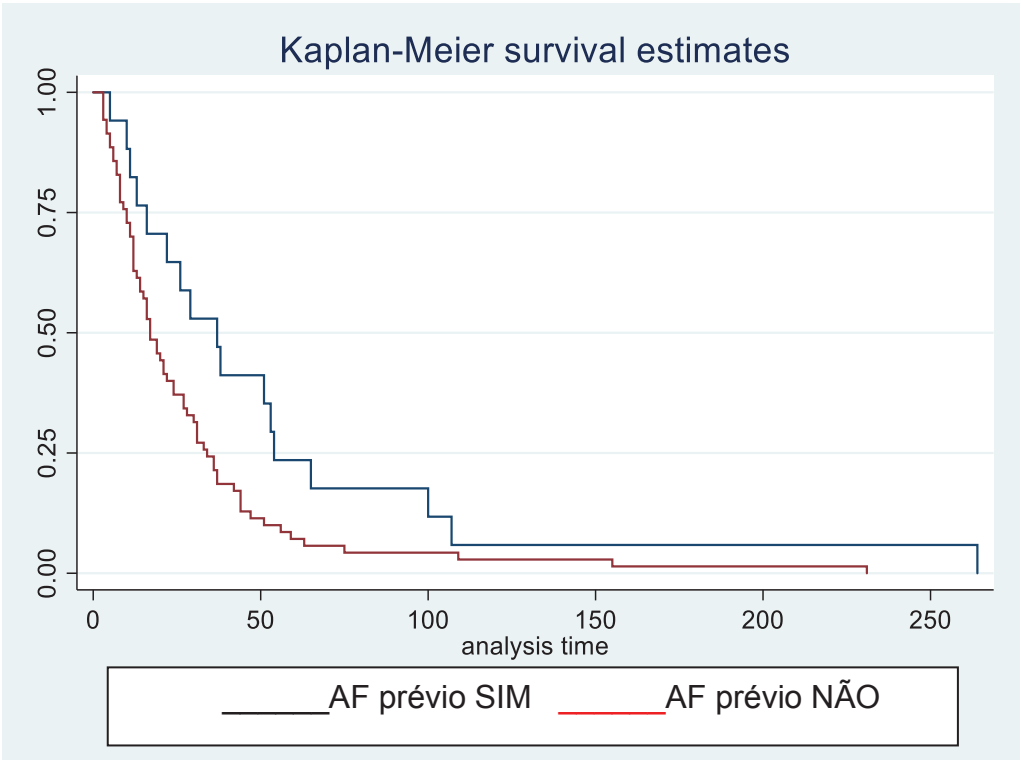
\*Qui-quadrado, \*\* Cox.

Após a realização de *log-rank-test* e cox, observou-se que a remoção do cateter e o uso de antifúngicos previamente à candidemia incidente apresentaram-se estatisticamente significantes na sobrevida dos pacientes com candidemia (Gráficos 5 e 6).

**Gráfico 5** – Avaliação da sobrevida dos pacientes com candidemia e remoção do cateter



**Gráfico 6.** Avaliação da sobrevida em função do uso de antifúngico prévio



## 5. DISCUSSÃO

A frequência de micoses invasivas por fungos oportunistas tem aumentado substancialmente ao longo dos últimos anos, e muitas espécies diferentes de *Candida* têm sido identificadas como agentes etiológicos de infecções da corrente sanguínea (PFALLER, 2002). Apesar disso, 90% das candidíases invasivas são causadas por *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* (*sensu latu*) e *C. krusei*. Por serem apresentarem biodiversidade, a identificação de espécies auxilia na presunção da fonte de infecção, estima o potencial de virulência do isolado, e ainda seu tempo de crescimento em cultivo e a sensibilidade aos antifúngicos (CDC, 2019; PAPAS, 2016).

### 5.1 INCIDÊNCIA

A incidência da candidemia varia nas diversas publicações pois está associada não somente a fatores de risco inerentes e complexos relacionados aos pacientes como também aos diversos cenários de internação, localização geográfica das instituições, condições de diagnóstico precoce e acesso a tratamentos de primeira linha (BERGAMASCO, 2013; MA, 2013 e COLOMBO, 2013b).

Estudos populacionais conduzidos em diferentes regiões geográficas apontam para um aumento das infecções causadas por *Candida* não-*albicans* e um decréscimo das infecções causadas por *C. albicans* (GUINEA, 2014; VALLABHANENI, 2015).

Durante os dois anos do estudo, 2016 e 2017, encontramos uma incidência geral de 1,20/1000 admissões e 0,27/1000 pacientes-dia. Observou-se ainda uma redução de 28,7% entre os anos de 2016 e 2017. Esta redução somente não foi observada no centro 3, um hospital público geral localizado na cidade de Londrina com 346 leitos hospitalares e com referência para oncologia no estado. A incidência geral neste hospital foi de 0,3/1000 pacientes/dia nos dois anos. A redução nos demais centros não foi relacionada com maior prática de profilaxia antifúngica.

Comparando com o estudo nacional, de Colombo e cols. em 2006, nominado “**Rede Candidemia Brasil**”, conduzido em 11 centros hospitalares no Brasil, no qual a densidade de incidência encontrada foi de 2,49/1000 admissões e a taxa foi de 0,3/1000 pacientes-dia, pode-se dizer que a densidade de incidência deste

estudo é menor quando comparada ao dado nacional e a densidade de incidência por 1000/pacientes-dia foi bastante semelhante (0,27/1000 pacientes-dia *versus* 0,3/1000 pacientes-dia), (COLOMBO, 2006).

Em uma publicação referente aos países da América Latina, a incidência geral foi de 0,23/1000 pacientes-dia sendo que no Brasil a incidência foi de 0,26/1000 pacientes-dia (variabilidade 0,14 a 0,30/1000 pacientes-dia) (NUCCI, 2013b). Ainda no Brasil, um estudo de vigilância laboratorial multicêntrico conduzido em 2003 e 2004 analisando 7.038 infecções da corrente sanguínea, encontrou-se 282 episódios de candidemia, revelando uma incidência geral de 1,66 episódios /1000 admissões (COLOMBO, 2007).

Na publicação paranaense de França e cols, que também avaliou 100 episódios de candidemia neste Estado, foi encontrado incidência de 1,27/1000 internações, ressaltando que foi um estudo de apenas um centro (FRANÇA, 2008).

Recentemente, outro estudo brasileiro reportou uma casuística de 331 episódios de candidemia com uma incidência de 1,30/1000 admissões (BRAGA, 2018).

Através deste estudo, considerando que envolveu oito centros hospitalares localizados em cinco cidades em três diferentes regiões do Estado do Paraná, pode-se dizer que a taxa de incidência deste estudo se encontra de acordo com dados já publicados no Brasil e na América Latina.

## 5.2 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO

O grupo de 100 pacientes estudados ficou dividido entre 56 homens e 44 mulheres. Os homens com candidemia apresentaram uma tendência maior a mortalidade comparada as mulheres ( $p = ,690$ ); podendo ser interpretado o sexo feminino como um fator protetor para o desenvolvimento de candidemia.

Alguns trabalhos reportam um predomínio maior na população masculina, entretanto a literatura descreve o períneo feminino como uma região colonizada e possível foco de infecção localizada e sistêmica, apontando para a colonização e translocação microbiana do períneo e de outros sítios de colonização além de possível contaminação do paciente a partir de fontes exógenas na patogenia da candidemia.



Este trabalho demonstrou mediana de idade de 46 anos, ou seja, pacientes adultos relativamente jovens que estavam internados nos hospitais do Paraná. Essa mediana de idade é uma característica particular, pois refletem a característica da comunidade, da população local e dos hospitais envolvidos. No estudo de Bassetti e cols, na Itália, a mediana de idade foi de 66 anos possivelmente refletindo a característica da população mais idosa na Europa, enquanto no trabalho de Yang na China, a mediana foi de 57,3 anos (BASSETTI, 2014; YANG, 2014).

Um estudo brasileiro, que avaliou 2.563 episódios de candidemia ocorridos em 16 hospitais brasileiros em cinco diferentes regiões do Brasil, sendo *Candida spp* o sétimo agente etiológico das infecções de corrente sanguínea que aconteceram mais na população masculina e com uma média de idade de 56 anos (DOI, 2016).

Quando realizado o teste de Mann-Whitney comparando a mediana entre os pacientes adultos que tiveram alta (31 anos) e os pacientes que evoluíram para óbito (55 anos), observou-se claramente que a idade é um fator de risco para mortalidade ( $p=0,009$ ).

O estudo de Labeé, comparou a incidência de candidemia em 3 períodos consecutivos e relatou sobre o aumento da mediana de idade ao longo dos períodos estudados. No período de 1996-1999, mediana de idade de 48 anos; no período de 2000-2002, mediana de 56 anos e entre 2003-2006, a mediana aumentou para 64 anos. Este aumento da idade é reflexo do aumento da sobrevida da população ao longo dos anos e a características dos pacientes que se encontram internados nas UTIs (LABBÉ, 2009).

A publicação nacional de Guimarães e cols, revelou uma prevalência de candidemia entre os idosos de 45,2%, as quais aconteceram em pacientes graves, internados na UTI, portadores de neoplasias, diabetes mellitus, doenças cardíacas e pulmonares e submetidos a cateterização central e cirurgias abdominais. A mortalidade da candidemia nos pacientes idosos (média de idade = 72 anos) foi de 69,7%; substancialmente maior que na população adulta jovem (44,5%). (GUIMARÃES, 2009).

Este estudo, demonstrou-se que a idade foi um fator protetor. As crianças apresentaram menos óbitos comparado aos adultos, assim como a mediana de idade dos pacientes que sobreviveu foi menor que a mediana de idade dos pacientes que evoluiu para óbito.

### 5.3 FATORES ASSOCIADOS

Neste estudo, 51% dos pacientes estiveram internados em UTI. Dos pacientes que evoluíram para óbito, 31(60,8%) tiveram internação em UTI, enquanto os que tiveram alta (20) apenas 39,2% ficaram na UTI, ou seja, a internação na UTI foi um fator associado a maior mortalidade ( $p=0,010$ ). Entretanto, quando se comparou a sobrevida entre os pacientes que ficaram internados na UTI *versus* internação em outras unidades; a sobrevida na UTI foi maior (27 dias e 16 dias respectivamente); porém não houve diferença estatisticamente significativa ( $p=0,60$ ).

Outros estudos também relatam características dos pacientes com candidemia internados em UTIs. Alguns deles, descrevem uma densidade de incidência mais elevada nas UTIs refletindo a gravidade destes pacientes já na sua admissão na unidade de terapia intensiva (GIRÃO,2008; ERDEN, 2010, FAGNANI, 2015).

A ventilação mecânica, que esteve presente em 40% dos pacientes e a insuficiência renal com diálise em 20% também foram fatores de risco associados a maior mortalidade ( $p=0,007$  e  $p=0,036$  respectivamente). Ventilação mecânica, necessidade de drogas vasoativas e de diálise são sabidamente relacionados a maior gravidade dos pacientes como já foi descrito anteriormente.

Diversos estudos, como o estudo realizado por Blot e cols; avaliou a mortalidade da candidemia em pacientes de UTI e revelou que insuficiência respiratória aguda, ventilação mecânica prolongada e duração prolongada na UTI como sendo fatores de risco para maior mortalidade, assim como idade avançada, presença de insuficiência renal e escore de APACHE II elevado (BLOT,2002; DUPONT, 2009). Neste estudo, o *score* de APACHE II não foi estatisticamente significativo quando se comparou os grupos que tiveram alta e que evoluíram para óbito, ressaltando que este *score* geralmente só é calculado nos pacientes internados em UTI e que nesta casuística, foram reportados em apenas 63%.

Vários estudos têm identificado fatores de risco para o desenvolvimento de infecções sistêmicas por *Candida* spp. A maioria destes fatores foi identificado em pacientes imunocompetentes gravemente enfermos; muitos deles são fatores comuns a pacientes hospitalizados; sendo assim, difícil determinar quais os indivíduos se encontram em maior risco para o desenvolvimento da infecção.

Dentre os mais acometidos, os pacientes imunodeprimidos, pacientes com câncer, pacientes em UTIs, pacientes cirúrgicos e queimados (YAPAR, 2014).

Cirurgias, especialmente aquelas envolvendo o trato gastrointestinal, foram associadas em vários estudos a um maior risco de candidemia (YAPAR, 2014). Em uma série brasileira, sendo que mais de metade dos episódios de candidemia ocorreu em pacientes cirúrgicos criticamente enfermos (COLOMBO, 2007).

Em nossa casuística, a cirurgia não foi um fator de risco para desenvolvimento de candidemia.

A literatura ainda descreve outros fatores de risco para candidemia, incluindo queimaduras extensas, baixo peso ao nascimento, uso de antiácidos ou bloqueadores H<sub>2</sub>, insuficiência renal ou hemodiálise, dieta parenteral, idade avançada, insuficiência hepática, transplantes, ventilação mecânica e duração da internação prolongada em UTI (BLUMBERG, 2001; KAYA, 2008; DELALOYE, 2014).

A insuficiência renal e choque também já foram descritos como fatores de risco para mortalidade independente da espécie isolada ex.: *C. albicans* ou *Candida* não-*albicans* (CHI, 2011).

Neste trabalho, as comorbidades associadas como doença cardiovascular, doença pulmonar, neurológica, renal, diabetes, neoplasias ou neutropenia **não** foram associados com maior mortalidade. O câncer esteve presente em 37% dos pacientes, o que já seria esperado considerando que 6 hospitais eram referência para oncologia no Paraná (14 pacientes com neoplasias hematológicas e 23 pacientes com tumores sólidos).

Sabe-se que a imunossupressão assim como a neutropenia são fatores de risco clássicos para candidemia, os quais estão presentes com bastante frequência nos pacientes oncológicos (GAMALETSOU, 2014; HALPERN, 2016). O câncer é uma condição clínica que favorece as candidemias por cepas não-*albicans*, como a *C. glabrata* e malignidades hematológicas em pacientes submetidos a transplante de células tronco-hematopoiéticas também estão mais associadas com episódios de candidemia por *C. krusei* (ANTINORI, 2016). Neste estudo, 51 episódios de candidemia por *C. não-albicans* ocorreram em 25 pacientes que tinham câncer como doença de base (49%). *C. tropicalis*, embora seja menos comum do que outras espécies de *Candida*, continua sendo um importante patógeno especialmente no cenário da oncologia em pacientes com com neoplasias hematológicas e neutropenia além da prática de profilaxia com fluconazol. Os fatores de pior

prognóstico para o desfecho da fungemia por *C. tropicalis* são leucemia, neutropenia persistente e, possivelmente candidemia de escape (KANTOYANIS, 2001).

Várias medicações foram avaliadas para encontrar associação como fatores de risco para episódios de candidemia. Observou-se que quase todos os pacientes deste estudo receberam antibióticos (94%) durante a internação, ficando igualmente distribuídos entre os grupos que evoluíram para óbito e o grupo que teve alta. Drogas imunossupressoras e quimioterapia não foram associadas com maior mortalidade. Já os corticosteróides e bloqueador H<sub>2</sub> tiveram forte associação com mortalidade ( $p=0,022$  e  $0,070$ ) respectivamente.

De longa data, sabe-se que a exposição prévia ou concomitante a antimicrobianos é um dos principais fatores de risco para candidemia. Embora potencialmente associado com qualquer agente, a pressão seletiva parece ser mais pronunciada com antibióticos de maior o espectro e duração da terapia antimicrobiana (WEY, 1989). Também a quantidade excessiva de antibióticos utilizados pelos pacientes pode acarretar alterações na microbiota endógena e favorecimento da translocação de *Candida* spp endógenas predispondo a candidemia (KAANICHE, 2016).

Pacientes com neoplasias, submetidos a quimioterapia ou que se encontram em UTI também são expostos a glicocorticóides, fatores de risco que também já foram confirmados em publicações (BERGAMASCO, 2013; BAILLY, 2017).

A corticoterapia possivelmente por suprimir a função dos neutrófilos e macrófagos ou por aumentar a colonização fúngica no tubo digestivo também já foi descrito como fator de risco para candidemia (NUCCI, 2002).

No estudo paranaense, conduzido por França e cols, o uso de bloqueadores H<sub>2</sub> e corticosteróides também esteve entre as condições associadas dos pacientes que desenvolveram candidemia. As condições mais frequentes relatadas foram uso de antibióticos (97%), presença de CVC (77%), bloqueador H<sub>2</sub> (57%), NPT (49%), internamento na UTI (41%), uso de corticosteróides (39%) além de cirurgia do aparelho digestivo (35%) (FRANÇA, 2008).

No estudo multicêntrico de Colombo e cols, que avaliou fatores prognósticos da candidemia em pacientes críticos em 22 centros hospitalares, o uso de corticosteróides, alto escore de APACHE II assim como idade avançada também foram relatados como preditores de mortalidade para candidemia (COLOMBO, 2014).

Neste estudo observou-se também que o uso prévio de antifúngico esteve mais associado no grupo das candidemias por *Candida* não-*albicans* (75%) comparado ao grupo das *C.albicans* (25%), com um valor de  **$p=0,044$** . Vários outros estudos já reportaram esta associação sendo explicada pela pressão seletiva do uso de antifúngicos (RODRIGUEZ, 2017; WU, 2011; DAS, 2011).

Estudo conduzido em Porto Alegre em 2008, já demonstrava preocupação com aumento de *C. glabrata* como um importante agente de fungemia na América Latina, isto devido ao consumo de fluconazol comparado em dois períodos distintos (PASQUALOTTO, 2008).

A exposição a antifúngicos prévios associada a internação em UTI, longa permanência hospitalar também são fatores de risco para redução da sensibilidade ao fluconazol (OXMAN, 2010), reforçando cada vez mais a importância correta da identificação das espécies bem com a realização de testes de susceptibilidade antifúngica e uso adequado dos antifúngicos no dia a dia.

Neste estudo, o uso de antifúngicos de forma profilática foi prescrito para 16 pacientes (8 onco-hematológicos e 8 não onco-hematológicos) e foi possível avaliar que o uso de antifúngico profilático fez diferença na sobrevida dos pacientes. Os pacientes que receberam antifúngico profilático tiveram uma sobrevida de 37 dias comparada aos pacientes que não receberam antifúngico profilático de 17 dias ( $p=0,033$ ).

Em nosso estudo, 93% dos pacientes foram submetidos a cateterização central e somente metade (51%) dos pacientes tiveram seus cateteres removidos em função da candidemia. Sabe-se que muitas vezes estes cateteres são imprescindíveis para a manutenção da vida do paciente especialmente aqueles que necessitam de drogas vasoativas, nutrição parenteral e sedação. Alguns pacientes apresentam plaquetopenia o que dificulta a retirada do cateter e a inserção de um novo dispositivo pelo risco de sangramento.

Quando se analisou a remoção do cateter e desfecho (alta ou óbito); observou-se claramente que a manutenção do cateter é um fator de risco para mortalidade. O risco relativo calculado foi de 0,46 indicando que a remoção do cateter é um fator protetor e o OR foi de 4,21 inferindo que a manutenção do cateter aumenta o risco de óbito (Tabela 12). Dentre fatores de risco que predisõem as infecções de corrente sanguínea, os dispositivos intravasculares em posição central foram os mais frequentemente associados no estudo de Marra, os quais estavam

presentes em 70,3% dos pacientes que desenvolveram ICS nos dezesseis hospitais estudados (MARRA, 2011).

A remoção do cateter, quando associado a candidemia, é considerado um item da terapia, já que a *Candida* spp coloniza o cateter formando biofilme e não havendo controle adequado do foco de infecção. Mesmo com esta afirmação, em alguns estudos a remoção do CVC não interferiu com o desfecho (COLOMBO, 2013b) e um estudo realizado por Nucci e cols descreveu que a remoção do CVC não foi associada a benefícios clínicos (NUCCI, 2010), dados também encontrados em outro trabalho que não relacionou a remoção do CVC a alteração na taxa de mortalidade hospitalar (VELASCO, 2011).

Ainda sobre a retirada do cateter, esta foi mais frequente no grupo de candidemia por *Candida* não-*albicans* do que no grupo de candidemias por *C. albicans* ( $p=0,034$ ). Este dado inicialmente não faz sentido, já que quando este cateter é removido, na grande maioria das vezes ainda não se tem o resultado microbiológico. Também pode-se inferir que neste grupo os cateteres tenham sido removidos após a identificação laboratorial na hemocultura ou que estes pacientes eram mais graves, e, portanto, os médicos optaram pela retirada do cateter também como possível controle de foco infeccioso.

Como já referido anteriormente, há forte associação entre candidemia e uso de CVC (NUCCI, 2010; FERNANDEZ-CRUZ, 2014). Argumentos favorecendo a aquisição exógena incluem a frequente associação de candidemia com o uso de cateteres intravenosos, em especial com cateteres muito manipulados ou em pacientes sob tratamento com nutrição parenteral, e a associação entre o uso de cateteres intravenosos e infecções por *Candida parapsilosis* (TUMBARELLO, 2012). Alguns modelos *in vitro* e *in vivo* já demonstraram a eficácia dos antifúngicos, especialmente as equinocandinas, nas infecções relacionadas a cateteres, entretanto deve ser feita uma avaliação cuidadosa para avaliar a remoção do cateter que por vezes pode representar um risco maior do que um benefício (BOUZA, 2015).

A disseminação endógena pode ocorrer a partir de uma infecção da corrente sanguínea levando a colonização microbiana do cateter que pode levar ao desenvolvimento de biofilme bacteriano ou fúngico, que são fontes potenciais de outra infecção de corrente sanguínea. A partir desse biofilme, células planctônicas

podem ser liberadas, causando uma infecção da corrente sanguínea (ANDES,2004; GOMINET, 2017).

Alguns autores nacionais, mais recentemente, defendem que a melhor estratégia a beira do leito é individualização da conduta, iniciando o antifúngico prontamente e se não houver resposta, considerar fortemente a remoção do cateter (NUCCI, 2016b).

*C. glabrata* também foi bastante estudada assim como seus mecanismos de virulência e formação de biofilmes nos cateteres (RODRIGUES, 2017). Portanto, a recomendação atual da IDSA é de que os cateteres sejam removidos quando associados a fonte de candidemia (PAPAS,2016).

Andes e cols. publicaram uma casuística bastante robusta mostrando o impacto da remoção do cateter e tratamento com equinocandina na melhora da sobrevida em pacientes com candidemia (ANDES, 2012).

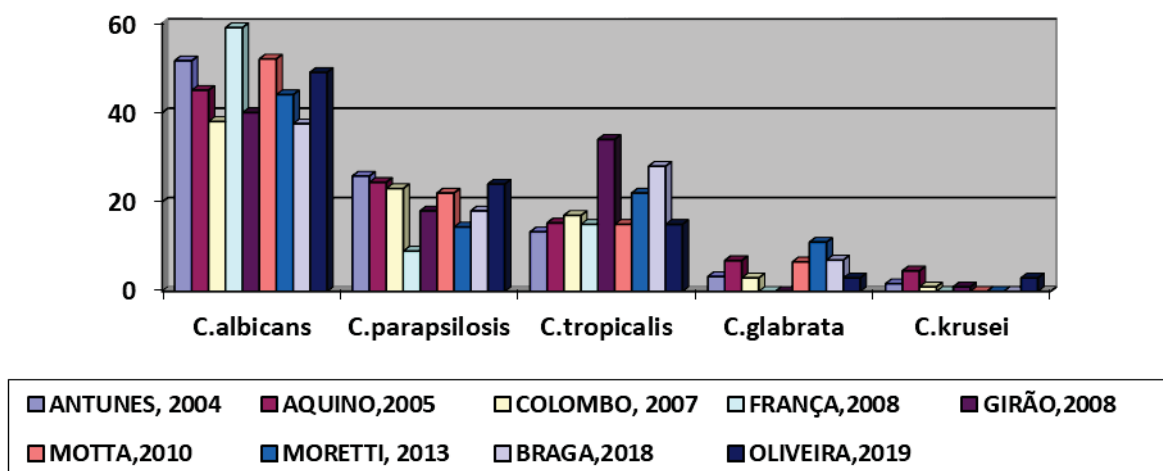
Também, para os pacientes renais crônicos, os cateteres de diálise devem ser substituídos por fistulas vasculares o mais breve possível minimizando o risco de infecções de corrente sanguínea e candidemias (OURIVES, 2016).

#### 5.4 DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES

A espécie *C. albicans* ainda é considerada a causa mais comum de candidemia em hospitais brasileiros (FRANÇA, 2008; GIRÃO, 2008; MOTTA, 2010; MORETTI, 2013) e os resultados obtidos neste estudo corroboram com esta evidência (Gráfico 7).



**GRÁFICO 7** – Estudos nacionais e distribuição das espécies de *Candida spp* associadas a episódios de Candidemia



Aumento da prevalência de candidemias causadas por espécies não-*albicans* tem sido relatada em diversos estudos nacionais (COLOMBO, 2006; COLOMBO, 2007; GIRÃO, 2008; NUCCI, 2013a). Estas espécies também foram encontradas pelo presente estudo, representando 51% dos isolados.

Existe uma dificuldade na identificação rotineira de espécies agrupadas em complexos ou que apresentam semelhanças morfológicas e bioquímicas com outras espécies (COLOMBO, 2013b) havendo necessidade de complementação de identificação através de métodos moleculares. Neste estudo, através da biologia molecular foi possível confirmar a espécie isolada na origem em 77%, revelando uma divergência de identificação entre os centros participantes e no LEMI de 23%. Ressalta-se que todos os hospitais participantes adotaram metodologias automatizadas e são hospitais referência no Estado do Paraná.

Como espécies raras, neste estudo foram identificados 2 isolados de *C. metapsilosis*, 3 isolados de *C. haemulonii* e um isolado de *C. kefyr*. A identificação destes isolados, somente foi possível através de biologia molecular realizada no LEMI. A *C. metapsilosis* faz parte do complexo *C. parapsilosis* onde encontram-se agrupadas três espécies: *C. parapsilosis sensu stricto*, *C. orthopsilosis* e *C. metapsilosis*.

Um estudo brasileiro que avaliou a distribuição de espécies, padrão de susceptibilidade e virulência de 53 isolados *C. parapsilosis* na região sudeste do



Brasil comprovou a capacidade e habilidade de realizar biofilme em superfície de poliestireno (ZICCARDI, 2015).

A importância da identificação correta das espécies tem sido motivo de várias publicações, especificamente quando se trata de espécies como *C. rugosa*, *C. pelliculosa*, *C. lusitaniae*, *C. famata*, *C. lipolytica* e *C. kefyr*. Ainda existe um consenso que a identificação por MALDI-TOF e sequenciamento da região ITS (*internal transcribed spacer*) do DNA ribossômico são considerados os meios mais confiáveis para identificação de espécies raras (DA MATTA, 2017).

A identificação correta das espécies do complexo *Parapsilosis* é importante uma vez que estas representam variações quanto a susceptibilidade antifúngica (VAN ASBECK, 2008; LOCKART, 2008, LOVERO, 2016).

Quando se avaliou a sobrevida entre os pacientes com candidemia por *C. albicans* versus demais candidemias, observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos ( $p=0,83$ ).

Observou-se baixas taxas de resistência aos antifúngicos neste trabalho, com os três isolados de *C. krusei* resistentes a fluconazol e os quatro isolados de *C. glabrata* também resistentes a fluconazol e voriconazol como já era esperado já que não existe valores de corte para estes fármacos nas recomendações do último documento do CLSI (CLSI, 2017). Os demais isolados de *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *C. tropicalis* foram sensíveis aos antifúngicos testados. Os isolados de *C. haemulonii*, *C. metapsilosis* e *C. kefyr* também foram testados e também não há valores de corte para assumir sensibilidade ou resistência (CLSI, 2017).

Preocupação com resistência ao fluconazol têm sido reportadas em todo mundo incluindo América Latina (NUCCI, 2013b; PFALLER, 2016). Isolados de *C. parapsilosis* resistente a azólicos já foi descrito no Brasil, através do estudo de Thomaz e cols (THOMAZ, 2018). Recentes publicações indicam uma mutação no gene ERG 11 contribuindo para resistência de *C. parapsilosis* aos azóis (BERKOW, 2015).

Estudos para elucidar mecanismos moleculares da resistência a azóis em *C. albicans* descobriram o papel da mutação do gene da biossíntese do ergosterol e do aumento do ERG e da bomba de efluxo do fármaco como principais mediadores da resistência ao azol. *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei* e *C. glabrata* expressam os genes transportador ABC e / ou MFS ortólogos a *CaCDR1* e *CaMDR1*. A expressão desses genes parece contribuir diferentemente para a resistência em

diferentes espécies. Reguladores transcricionais e as mutações genéticas que governam o efluxo de azóis e a biossíntese de esteróis em *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* e *C. krusei* não foram totalmente elucidados e existem diferenças claras nas mutações no *ERG11* que são encontrados para influenciar a resistência aos azóis em isolados clínicos entre estas espécies. Como a resistência ao azol continua a emergir nestas espécies, uma compreensão mais completa das diferenças importantes entre os mecanismos de resistência empregados por estas espécies é necessária (WHALEY,2017).

Ainda sobre a importância da identificação correta das espécies, o trabalho de Gangneux, avaliou a correlação entre alguns fatores de virulência e evolução clínica em uma coorte de 349 pacientes de UTI com candidemia e descreve que as candidemias por *C. albicans* foram associadas com um menor risco de mortalidade em comparação com grupo de candidemias por *C. não-albicans* e que cepas de *C. albicans* exibiram menos freqüentemente formação de biofilme precoce do que as cepas *não-albicans*. Com relação aos fatores de virulência foram correlacionados com a formação de biofilme e suscetibilidade a antifúngicos, e que a alta expressão de superfície de  $\beta$ -Man foi associada a pior resultado de 28 dias (GANGNEUX,2018).

Colombo e cols ainda reforçam sobre a emergência da *C. auris*, a importância correta da identificação das espécies, programas contínuos de vigilância de resistência antifúngica e a consolidação dos programas de *stewardship* nos hospitais terciários como fatores importantes para o controle da emergência da resistência (COLOMBO, 2017). Com intuito de preservar a resistência aos antifúngicos, uso desta classe deve ser limitada para cenários e pacientes bem estabelecidos como pacientes de alto risco com precisa avaliação de *scores* já validados na literatura ressaltando a falta de consistência de dados para uso rotineiro nas UTIs e em todos os pacientes cirúrgicos (ANDRUSZKO, 2016). Ainda sobre a *C. auris*, várias alertas do CDC, assim como publicações recentes reforçam a fácil disseminação no ambiente e importância da limpeza hospitalar adequada para evitar surtos nosocomiais (CDC, 2018; RUIZ-GAITAN, 2018).

Infecções causadas por *C. glabrata* têm aumentado recentemente e estão relacionadas ao uso abusivo de fluconazol nos hospitais (PASQUALOTTO, 2008). As equinocandinas têm sido descritas como drogas de escolha para tratamento das

candidemias, porém resistência a esta classe também já tem sido relatada desde 2006 (KATİYAR, 2006; HEALEY, 2011; KATİYAR, 2012; BIZERRA, 2014).

Recentemente publicado, avaliação do SENTRY (Antimicrobial Surveillance Program), que monitoriza as infecções comunitárias e nosocomiais mundialmente, reportam uma baixa resistência de *C. glabrata* (2,8%) e *C. tropicalis* (1,3%) a micafungina, relacionando-as com a mutação FKS. Reforça ainda atenção para candidemia de escape e necessidade de contínuo monitoramento de espécies e susceptibilidade aos antifúngicos (PFALLER, 2019).

Em 2015 no Paraná, o trabalho de Herkert *et al*, também demonstrou baixas taxas de resistência aos antifúngicos em diferentes espécies de *Candida* spp e a *C. glabrata* com o maior número de isolados resistentes a equinocandina (HERKERT, 2015).

Neste estudo, três episódios de candidemia ocorreram por *C. haemulonii* sendo que inicialmente não havia sido identificado nenhum isolado. Os três isolados de *C. haemulonii* somente foram identificados através de biologia molecular, e inicialmente haviam sido identificadas como *C. peliculosa* e duas como *C. glabrata*. Nenhum dos três casos ocorreu em neonatos, todos foram testados para os antifúngicos e não há valores de referência de *breakpoints* para esta espécie no CLSI. Felizmente não houve nenhum óbito associado. Somente um dos pacientes tinha câncer como doença de base.

O primeiro caso de *C. haemulonii* foi descrito em 1984, sua prevalência ainda é rara como agente de infecção da corrente sanguínea e pode ser fatal em neonatos (XIA, 2017). No Paraná, o primeiro relato de *C. haemulonii* foi publicado em 2012. Foram relatados três casos, o primeiro de uma criança com Síndrome de Down internada com cardiopatia grave, o segundo era uma criança de 9 anos internada por neutropenia febril e sarcoma de Ewing e o terceiro caso uma adolescente de 16 anos com leucemia mielóide aguda, todas procedentes de um hospital pediátrico paranaense. Esses três isolados haviam sido identificados como *K. ohmeri* através do sistema API 20C. Os isolados foram confirmados por MALDI-TOF seguido de sequenciamento molecular e sensibilidade intermediária a anfotericina B, sensibilidade dose-dependente ao fluconazol e resistência a micafungina (MURO, 2012).

Outro caso de *C. haemulonii* foi descrito em 2014 em uma paciente oncológica de 26 anos submetida a cirurgia e depois quimioterapia. Havia sido

identificada inicialmente como *C. parapsilosis* e *C. guilliermondi*, e através do sequenciamento do ITS1 confirmou-se que era *C. haemulonii* (DE ALMEIDA, 2014).

Em 2015, foi publicado no Brasil um caso de *C. haemulonni* em um RN de 660 g nascido com 26,6 semanas resistente a anfotericina B (MIC 8µg/mL) e sensível a fluconazol e voriconazol (SILVA,2015).

## 5.5 DESFECHO

A gravidade da candidemia é confirmada pela alta taxa de mortalidade hospitalar e possivelmente taxas elevadas ocorram devido a incidência desta infecção ocorrer em pacientes graves e com risco de vida. Neste estudo, a taxa de mortalidade foi de 48%, um pouco abaixo das estatísticas nacionais publicadas por Medrano e cols com 61,9% de mortalidade e 55,4% na casuística de Wille (MEDRANO, 2006; WILLE, 2013). A mortalidade em 30 dias no estudo nacional de candidemia foi de 54% (COLOMBO, 2006) e no estudo paranaense foi de 56% (FRANÇA,2008).

Dos quarenta e oito pacientes que evoluíram para óbito, dezenove pacientes (39,5%) não haviam recebido tratamento (resultado da hemocultura foi liberado após o óbito dos pacientes) representando 45,8% de diagnóstico tardio.

A duração média do resultado da hemocultura foi de 4 dias, variando de 1 a 15 dias. A demora de 15 dias para liberação de um resultado de hemocultura é muito preocupante e pode estar associada ao atraso no início do tratamento e consequentemente no impacto da mortalidade.

Este atraso no início do tratamento está intimamente relacionado a piores desfechos e já foi reportado em alguns trabalhos, reforçando-se a importância de adoção de métodos diagnósticos efetivos para realização de diagnóstico mais precoce (MORELL, 2005; GAREY,2006).

A mediana de idade dos pacientes que evoluíram para óbito foi de 55 anos, enquanto pacientes que tiveram alta foi de 31 anos ( $p=0,009$ ), concluindo que a idade avançada é um fator de risco para mortalidade.

Os fatores de risco para candidemia neonatal divergem dos fatores em adultos (BLYTH,2014; ZAOUTIS,2010). Entre os neonatos, a prematuridade, baixo peso ao nascer além da colonização e dispositivos invasivos prevalecem e nas crianças maiores os fatores de risco são doenças neurológicas de base, uso de antibiótico de

amplo espectro, neoplasia e terapias imunossupressoras além do uso de cateter em posição central (LIU, 2015; AGRAWAL, 2015; HSU, 2018). A remoção do cateter em pacientes pediátricos também apresenta impacto na mortalidade (KARADAG-ONCEL, 2014).

Neste estudo, a sobrevida foi estatisticamente significativamente nos pacientes que tiveram seus cateteres removidos (27 dias) comparado aos pacientes que permaneceram com CVC (13 dias),  $p = 0,029$ .

Idade avançada já foi relatada como fator de risco para mortalidade em publicações nacionais (COLOMBO, 2007; COLOMBO, 2014).

Uma ressalva deve ser feita para os 22 pacientes que não receberam tratamento algum e evoluíram para óbito, refletindo a baixa suspeição diagnóstica de fungos como agente de sepse e início de terapia empírica para pacientes de alto risco.

Sabe-se que as hemoculturas podem ter resultados demorados. Desta forma, exames não baseados em culturas para diagnóstico de candidemias podem otimizar o diagnóstico e oferecimento de terapia antifúngica mais precoce, especialmente nos pacientes mais críticos (KAANICHE, 2016).

Biomarcadores como a procalcitonina tem sido estudado, porém não há consenso de que possa ser utilizado com segurança para diferenciar infecções bacterianas de candidemias (CHARLES, 2006, RAINERI, 2017, YAZDANI, 2018). Já a detecção de 1-3  $\beta$ -glucana de forma seriada pode apresentar sensibilidade acima de 90% (LÉON, 2006) porém ainda não estão amplamente disponíveis devido alto custo.

Com o aumento de infecções causadas por fungos e a alta morbi-mortalidade associados, assim como a emergência de cepas resistentes, a necessidade de início de terapêutica precoce e eficaz assim como estratégias bem estabelecidas de uso profilático, pré-emptivo e empírico em pacientes selecionados devem ser encorajadas (DELALOYE, 2014; PARAMYTHIOUTOU, 2014).

O benefício da profilaxia antifúngica em pacientes hematológicos e transplantados é indiscutível e já sustentado na literatura há muitos anos (ULMANN, 2006; KANTOYIANIS, 2011; GEDIK 2014, GEDIK, 2015). Em um estudo de vigilância nacional, a taxa de mortalidade foi de 76,4% nos primeiros anos e de 60,8% no segundo período (COLOMBO, 2014) e de 76% quando avaliados pacientes exclusivamente internados em UTI (GIRÃO, 2008).

A mortalidade também difere conforme os cenários onde ocorrem as candidemias, tendendo a ser menor em pacientes clínicos do que em pacientes internados em UTIs e conforme a terapêutica utilizada, risco aumentado de cepas resistentes assim como adequado controle do foco infeccioso (BEARDSLEY, 2018).

A candidemia persistente tem sido objeto de publicações e deve-se atentar para importância do controle de focos inesperados, devendo os pacientes serem avaliados para pronta remoção do cateter, desobstrução vesical, drenagem de abscessos e controle da fonte da infecção o mais breve possível para que se obtenham melhores resultados (AGNELLI, 2019). A retirada do cateter também deve ser estimulada especialmente em pacientes com câncer e transplantes de órgãos sólidos para controle do foco infeccioso (SLAVIN, 2010; TISSOT, 2016; STEMPEL, 2016, BASSETTI, 2017).

Considerando as poucas opções terapêuticas no armamentarium antifúngico e o risco de resistência como uma realidade emergencial, o momento correto assim como o uso prudente da classe dos antifúngicos devem ser maximizados para preservar a resistência a (MATTHAIU, 2015; KONTOYANNIS, 2017).

## 5.6 TRATAMENTO

Neste estudo, o tratamento mais frequentemente prescrito foi equinocandina, correspondendo a 37% das prescrições. As equinocandinas foram prescritas como droga única para tratamento de candidemias em 29 pacientes (37%) e como terapia sequencial em 25 dos pacientes (32%), totalizando 54% das prescrições. A anfotericina B foi a segunda droga mais prescrita, não fazendo referência ao tipo se era convencional ou em formulação lipídica (Tabela 15). Sabe-se que a anfotericina B desoxicolato ainda é uma opção real no cenário das UTIs neonatais e pediátricas e também pode refletir uma opção terapêutica de baixo custo considerando que todos os hospitais do estudo eram públicos ou filantrópicos, apesar dos efeitos colaterais muitas vezes deletérios e aditivos nos pacientes graves. Recentes publicações já recomendam o uso de anfotericina B em formulação lipossomal, micafungina. Anidulafungina como opções terapêuticas seguras em crianças (GROLL, 2010; WALSH, 2019).

Também não se observou aumento da sobrevida entre os pacientes que receberam equinocandina (N=55) comparada aos demais tratamentos (N=23) com sobrevida de 19 e 22 dias respectivamente,  $p=0,846$ ).

As equinocandinas assumiram um papel importante no tratamento da candidemia tendo em vista sua baixa toxicidade, segurança inclusive em crianças e ação em biofilme (AGNELLI, 2016; COLOMBO, 2017).

O tratamento isolado mais frequente também foi realizado com equinocandina ou fluconazol no estudo denominado PATH – *Prospective Antifungal Therapy* o qual avaliou aspectos epidemiológicos e evolução de 2.496 episódios de candidemia por *Candida não-albicans* (PHALLER, 2014). As últimas recomendações da IDSA no *guideline* de manejo e tratamento da candidemia tanto em pacientes neutropênicos como em pacientes não-neutropênicos graves recomenda o uso de equinocandinas como primeira opção terapêutica (PAPPAS, 2016).

No trabalho de Andes, o qual analisou 1915 pacientes com candidemia, a remoção do cateter e tratamento antifúngico com equinocandina esteve claramente associado com menor mortalidade,  $p = 0,001$  e  $p = 0,002$  respectivamente (ANDES, 2012).

O fluconazol também pode ser usado quando não houver suspeita de resistência e a anfotericina B desoxicolato é a primeira opção na candidíase invasiva neonatal e com comprometimento do SNC (PAPPAS, 2016).

O tempo entre diagnóstico e início do tratamento assim como o início de terapêutica eficaz são marcadores importantes da qualidade da assistência prestada considerando que vários estudos reportam para uma maior mortalidade quando a terapêutica inicial é atrasada ou inadequada (CHEN, 2013; DAS, 2011).

A mortalidade está diretamente relacionada com terapia adequada e início precoce da prescrição de antifúngico, já demonstrada em publicações como a de Yang, que apresenta uma clara relação entre a mortalidade em 28 dias e início do tratamento. A mortalidade quando tratamento foi instituído em até 48h foi de 19,7%, 25% para terapia iniciada até 96h, 28,6% até 120 horas e 50% para início de terapia com mais de 120 horas (YANG, 2014). E como fator preditor de mortalidade, a terapia inadequada e falta de controle do foco de infecção foram fatores de risco independentes no estudo retrospectivo com 216 pacientes com candidemia conduzido na Itália e Espanha (BASSETTI, 2014).



Estratégias para reduzir a mortalidade de candidemia dos pacientes em países em desenvolvimento já foram apontadas. Dentre as estratégias, ressalta-se a importância de identificação correta através de laboratórios de referência em micologia, melhor controle da infecção como controle adequado do foco infeccioso, conhecimento da epidemiologia local para delinear estratégias de tratamento empírico assim como pacientes elegíveis para profilaxia e desenvolvimento de programas de *stewardship* nas instituições (NIVOIX, 2012, VALERIO, 2015; KAUR, 2017) além de ressaltar a importância na atenção para fatores modificáveis que impactam na mortalidade como terapêutica eficaz e pronta remoção do cateter (PHALLER, 2019) e rastreio de possíveis focos como comprometimento ocular com retinite e realização de ecocardiografia para afastar endocardite (BEM-AMI, 2018). A baixa suspeição de fungos como agentes de sepse tem sido apontada especialmente quando associado a choque séptico (KOLLEF, 2012).

A utilização de métodos como dosagem sérica de (1,3) - $\beta$ -glucana tem sido apontada como uma estratégia aliada para descontinuação da terapia antifúngica. Estudo de coorte de Murri que avaliou 1296 pacientes de 2013 a 2016 (1196 controles e 100 pacientes com candidemia), encontrou um VPN de 97 a 99,1 (MURRI, 2019). Infelizmente, este exame ainda não se encontra disponível de forma corriqueira nos hospitais do Paraná.

## 5.7 LIMITAÇÕES

Primeiro, dados como o tempo de positividade da hemocultura periférica e central e o intervalo entre o diagnóstico da candidemia e a retirada do cateter central não foram avaliados, limitando associação do CVC como fator de risco.

Segundo, trata-se de um estudo observacional apenas, no qual nenhuma intervenção específica foi realizada.

## 5.8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observou-se uma densidade de incidência e elevada mortalidade compatíveis com os dados já publicados na literatura apesar de ter sido observada uma pequena redução na densidade de incidência de 2016 para 2017;



A distribuição das espécies foi de *C. albicans* (N=49%) e espécies não *C. albicans* (N=51%), e a densidade de incidência semelhante aos estudos nacionais e da América Latina e elevada mortalidade (48%) ainda;

Diante da alta letalidade, cabe uma reflexão para uma necessidade de atenção especial à população de pacientes vulneráveis, com atenção particular aos fatores de risco já conhecidos, início de terapêutica empírica como estratégia além de implementação de métodos diagnósticos não somente baseado em culturas para um diagnóstico e início de terapêutica mais precoces.

Anidulafungina foi sensível a todas espécies de *C. albicans* e espécies não-*C. albicans*, confirmando uma opção segura para tratamento empírico conforme recomendações dos *guidelines*;

O diagnóstico tardio pós-*morten* foi realizado em 22 pacientes representando 45,8% dos pacientes que evoluíram para óbito, inferindo uma baixa suspeição diagnóstica de *Candida* spp como agente de sepse.

Sobre a divergência entre os isolados na origem e no Laboratório Especial de Micologia da UNIFESP, recomenda-se um *feedback* aos laboratórios dos hospitais locais e gestores do Estado do Paraná para que seja implementado um controle de qualidade nos serviços laboratoriais (especialmente os terceirizados) com melhoria na identificação na origem e capacitação técnica local, assim como sugestão de confirmação de todas as cepas por MALDI-TOF no LACEN em Curitiba-PR.

## 6 CONCLUSÕES

- Através deste estudo foi possível conhecer melhor sobre o perfil clínico-epidemiológico das candidemias de 8 hospitais em cinco diferentes cidades no Estado do Paraná.
- Foi realizada a caracterização molecular das espécies isoladas assim como o teste de susceptibilidade aos antifúngicos. Através de recursos de identificação por biologia molecular foi possível identificar outras espécies como *C. kefyr*, *C. haemulonii* e *C. metapsilosis* que não haviam sido reportadas nos hospitais de origem.

- Como fatores associados ao prognóstico, observou-se que o grupo dos pacientes que não houve remoção do cateter apresentou piora na sobrevida e que práticas de profilaxia são pouco realizadas permitindo que pacientes com múltiplos fatores de risco (cirurgias, exposição a NPT, cateteres, uso de antimicrobianos) além da internação prolongada em UTI fiquem susceptíveis a candidemia;
- A resistência antifúngica no Estado do Paraná ainda não é uma preocupação.

Sendo assim, concluiu-se que estas informações clínicas, laboratoriais e epidemiológicas são importantes ferramentas para melhor manejo clínico e decisão terapêutica no Paraná e no Brasil.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, J; BODEY GP; HANNA HE; MARDANI M; GIRGAWY E; ABI-SAID D; WHIMBEY E; HACHEM R; RAAD I. *Candida krusei* fungemia. An escalating serious infection in immunocompromised patients. Arch Intern Med vol 160, sep 25, 2659-2664, ;2000.

AGNELLI, C., VALERIO, M., BOUZA, E. et al. Eur J Clin Microbiol Infect Dis (2019) 38: 607.

AGRAWAL C; BISWAS D; GUPTA A; CHAUHAN BS. Antibiotic Overuse as a Risk Factor for Candidemia in an Indian Pediatric ICU. Indian J Pediatr (June 2015) 82(6):530–536 DOI 10.1007/s12098-014-1631-0.

ALMEIDA, BM; BREDÁ, GL; QUEIROZ-TELLES F; TUON, FF. Positive tip culture with *Candida* and negative blood culture: to treat or not to treat? A systematic review with meta-analysis. Scandinavian Journal of Infectious Diseases; Early Online: 1–8, 2014.

ALMIRANTE, B; RODRIGUEZ, D; PARK, BJ; CUENCA-ESTRELLA, M; PLANES, NA; ALMELA, M; MENSA, J; SANCHEZ, F; AYATS, J; GIMENEZ, M; SABALLS, P; FRIDKIN, SK; MORGAN, J; RODRIGUEZ-TUDELA, JL; WARNOCK, DW; PAHISSA, A and the Barcelona Candidemia Project Study Group. Epidemiology and Predictors of Mortality in Cases of *Candida* Bloodstream Infection: Results from Population-Based Surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Apr. 2005, p. 1829–1835 Vol. 43, No. 4 0095-1137/05/\$08.000 doi:10.1128/JCM.43.4.1829–1835,2005.

ANDES, D; NETT, J; OSCHER, P; ALBRECHT, R; MARCHILLO, K AND PITULA, A. Development and Characterization of an *In Vivo* Central Venous Catheter *Candida albicans* Biofilm Model. INFECTION AND IMMUNITY, p. 6023–6031 Vol. 72, No. 10, 2004.

ANDES, D.R. et.al. Impact of treatment strategy on outcomes in patients with candidemia and other forms of invasive candidiasis: a patient-level quantitative review of randomized trials. CID. v.54, p.1110-1122, 2012.

ANDRUSZKO, B. & DODDS ASHLEY, E. Curr Clin Micro Rpt (2016) 3: 111. <https://doi.org/10.1007/s40588-016-0039-1>.

ANTINORI, A; MILAZZO L; SOLLIMA S; GALLI M; CORBELINLINO M. Candidemia and invasive candidiasis in adults: A narrative review. European Journal of Internal Medicine34, 21–28, 2016.

ANTUNES, AGV; PASQUALOTTO, AC; DIAZ, MA; DÀZEVEDO PA, SEVERO, LC. Candidemia in a Brazilian tertiary care hospital: species distribution and antifungal susceptibility patterns. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo vol.46 no.5 São Paulo,2004.

ANVISA, 2017. Comunicado de risco. Nº. 01/2017- GVIMS/GGTES/ANVISA. Relatos de surtos de *Candida auris* em serviços da América Latina. Brasília 14 de março de 2017.

AQUINO, V.R; LUNARDI, L.W; GOLDANI, L.Z; BARTH, A.L. Prevalence, Susceptibility Profile for Fluconazole and Risk Factors for Candidemia in a Tertiary Care Hospital in Southern Brazil. The Brazilian Journal of Infectious Diseases; 9(5):411-418, 2005.

ARENDRUP, M.C. Epidemiology of invasive candidiasis. Current Opinion in Critical Care, 16:445-452, 2010.

ARENDRUP MC, FUURSTED K, GAHRN-HANSEN B, SCHØNHEYDER HC, KNUDSEN JD, JENSEN IM et al. Semi-national surveillance of fungaemia in Denmark 2004-2006: increasing incidence of fungaemia and numbers of isolates with reduced azole susceptibility. Clin Microbiol Infect;14: 487-94, 2008.

ASMUNDSDOTTIR, RL; ERLENDSDOTTIR, H; GOTTFREDSSONB, M. Nationwide Study of Candidemia, Antifungal Use, and Antifungal Drug Resistance in Iceland, 2000 to 2011 Vol 51 Number 3 Journal of Clinical Microbiology p. 841– 848, 2013.

ASNER, S.A; GIULIERI, S; DIEZI, M; MARCHETTI, O; SANGULARDD D. Acquired Multidrug Antifungal Resistance in *Candida lusitanae* during Therapy. Agents Chemother, vol. 59 No. 127715-7722, 2015.

AVNI T, LEIBOVICI L, PAUL M. PCR diagnosis of invasive candidiasis: systematic review and meta-analysis. J Clin Microbiol; 49:665–70. 26, 2011.

BAILLY, S; LEROY O, DUPONT, H; FRANCOIS TIMSIT J. Secondarily documented invasive candidiasis is unpredictable using traditional risk factors in non-transplant – non-neutropenic adult ICU patients. International Journal of Infectious Diseases 54, 31–33, 2017.

BASSETTI, M.; TARAMASSO, L.; NICCO, E.; MOLINARI, M.P.; MUSSAP, M.; VISCOLI, C. Epidemiology, Species Distribution, Antifungal Susceptibility and Outcome of Nosocomial Candidemia in a Tertiary Care Hospital in Italy. PLoS One.v.6, n.9, p.1-6, 2011.

BASSETTI M, RIGHI E, ANSALDI F, MERELLI M, SCARPARO C, ANTONELLI M, GARNACHO-MONTERO J, DIAZ-MARTIN A, PALACIOS-GARCIA I, LUZZATI R, ROSIN C, LAGUNES L, RELLO J, ALMIRANTE B, SCOTTON PG, BALDIN G, DIMOPOULOS G, NUCCI M, MUNOZ P, VENA A, BOUZA E, DE EGEE V, COLOMBO AL, TASCINI C, MENICHETTI F, TAGLIAFERRI E, BRUGNARO P, SANGUINETTI M, MESINI A, SGANGA G, VISCOLI C, TUMBARELLO M. A multicenter multinational study of abdominal candidiasis: epidemiology, outcomes and predictors of mortality. Intensive Care Med.; 41(9):1601-10, 2014.

BASSETTI M, PEGHIN M, CARNELUTTI A, RIGHI E, MERELLI M, ANSALDI F, TRUCCHI C, ALICINO C, SARTOR A, WAUTERS J, LAGROU K, TASCINI C, MENICHETTI F, MESINI A, DE ROSA FG, LAGUNES L, RELLO J, COLOMBO AL, VENA A, MUNOZ P, TUMBARELLO M, SGANGA G, MARTIN-LOECHES I, VISCOLI

C. Invasive Candida Infections in Liver Transplant Recipients: Clinical Features and Risk Factors for Mortality. *Transplant Direct*. 2017 Apr 18;3(5): e156. doi: 10.1097/TXD.0000000000000673. PubMed PMID: 28573191; PubMed Central PMCID: PMC5441987.

BD PHOENIX™ automated identification and susceptibility testing system brochure, 2008. USA.

BEARDSLEY J, HALLIDAY CL, CHEN SC, SORRELL TC. Responding to the emergence of antifungal drug resistance: perspectives from the bench and the bedside. *Future Microbiol*. 2018. Aug; 13:1175-1191. doi: 10.2217/fmb-2018-0059, 2018.

BECK-SAGUÉ C, JARVIS WR. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. National Nosocomial Infections Surveillance System. *J Infect Dis*. May;167(5): 124, 1993.

BERGAMASCO MD; GARNICA, M; COLOMBO, AL; NUCCI, M. Epidemiology of candidemia in patients with hematologic malignancies and solid tumors in Brazil. *Mycoses*, 56, 256-263, 2013.

BERKOW EL, MANIGABA K, PARKER JE, BARKER KS, KELLY SL, ROGERS PD. 2015. Multidrug transporters and alterations in sterol biosynthesis contribute to azole antifungal resistance in *Candida parapsilosis*. *Antimicrob Agents Chemother* 59:5942–5950. doi:10.1128/AAC.01358-15,2015.

BENNETT JE; POWERS JH. Candidemia in the ICU: does initial antifungal matter? *Critical Care Medical Journal*, vol 46, N 3. March 2018.

BEN-AMI, R. Review Treatment of Invasive Candidiasis: A Narrative Review. *J Fungi*, 4, 97, 2018.

BLYTH CC, CHEN SC, SLAVIN MA, SERENA C, NGUYEN Q, MARRIOTT D, ELLIS D, MEYER W, SORRELL TC; Australian Candidemia Study. Not just little

adults: candidemia epidemiology, molecular characterization, and antifungal susceptibility in neonatal and pediatric patients. *Pediatrics*. 2009 May; 123(5):1360-8. doi: 10.1542/peds.2008-2055.

BIOMÉRIEUX. Identification VITEK 2 YST CARD. BioMérieux, 2008. Marcy l'Etoile, France.

BRAGA, PR; CRUZ IL; ORTIZ I; BARREIROS G.; NÓUER SA; NUCCI M. Secular trends of candidemia at a Brazilian tertiary care teaching hospital. *Braz J Infect Dis*, 22(4):273-277, 2018.

BREDA GL, TUON FF, MEIS JF, HERKERT PF, HAGEN F, DE OLIVEIRA LZ, DIAS VC, DA CUNHA CA, QUEIROZ-TELLES F. Breakthrough candidemia after the introduction of broad-spectrum antifungal agents: A 5-year retrospective study. *Med Mycol*. Jun 1; 56(4):406-415.2018.

BISWAL M; RUDRAMURTHY SM, JAIN N, SHAMANTH AS, SHARMA D, JAIN K, YADDANAPUDI LN, CHAKRABARTI A. Controlling a possible outbreak of *Candida auris* infection: lessons learnt from multiple interventions. *J Hosp Infect*. Dec;97(4):363-370, 2017.

BIZERRA, FC; JIMENEZ-ORTIGOSA, C; SOUZA, ACR; BREDA, GL; QUEIROZ-TELLES, F; PERLIN, DS; COLOMBO AL. Breakthrough Candidemia Due to Multidrug-Resistant *Candida glabrata* during Prophylaxis with a Low Dose of Micafungin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* p. 2438–2440, V 58 N.4, 2014.

BLOT S, VANDEWOUDE K, HOSTE E, POELAERT J, and COLARDYN F. Outcome in critically ill patients with candidal fungaemia: *Candida albicans* vs. *Candida glabrata*. *J Hosp Infect* 47: 308-313, 2001.

BOUGNOUX ME, KAC G; AEGERTER P; D'ENFERT C; FAGON JY. Candidemia and candiduria in critically ill patients admitted to intensive care units in France: incidence, molecular diversity, management and outcome. *Intensive Care Medicine*, Volume 34, Issue 2, pp 292–299,2008.

BOUCHER, HW; TALBOT, GH; BRADLEY, JS; EDWARDS JR, JE; GILBERT, D; RICE, LB; SCHELD, M; SPELLBERG, B AND BARTLETT J. Bad Bugs, No Drugs: No ESKAPE! An Update from the Infectious Diseases Society of America. CID: 48 (1 January), 2009.

BOUZA E, GUINEA.J; GUEMBE, M. The Role of Antifungals against Candida Biofilm in Catheter-Related Candidemia. Antibiotics 2015, 4, 1-17; doi: 10.3390/antibiotics4010001.

BLUMBERG, HM; JARVIS WR, SOUCIE JM, EDWARDS JE, PATTERSON JE, PFALLER

MA, et al. Risk factors for candida bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. The National Epidemiology of Mycosis Survey. Clin Infect Dis. Jul 15; 33(2):177-86, 2001.

CALVO, B; MELO, ASA; PEROZO-MENA, A; HERNANDES M; FRANCISCO EC; HAGEN F; MEIS JF; COLOMBO AL. First report of *Candida auris* in America: Clinical and microbiological aspects of 18 episodes of candidemia. Journal of Infection, Vol 73, issue, pages 369-374, 2016.

CANELA, HM; CARDOSO, B; VITALI LH; COELHO, HC; MARTINEZ R; FERREIRA, MAS. Prevalence, virulence factor and antifungal susceptibility of Candida pp isolated from bloodstream infection in a tertiary care hospital in Brazil. Mycoses, 1-11, 2017.

CASADEVAL A; FAND FC; PIROFSKI LA. Microbial Virulence as an Emergent Property: Consequences and Opportunities. Plospathogens, vol 7, issue 7, 2011.

CDC, 2018. *Candida auris*. What's new? <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/index.html>, acesso em 12/06/2018.



Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID), Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases (DFWED), Invasive Candidiasis. Page last reviewed April 12, 2019.

CLSI. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Fourth Informational Supplement. CLSI document M27-S4. Fourth Ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2017.

CLSI Performance standards for Antifungal Susceptibility testing of yeast. First ed. CLSI Supplement M60. Wayne. PA. Clinical Laboratory Institutes, 2017.

CLANCY CJ, NGUYEN, and MH, Finding the "missing 50%" of invasive candidiasis: how nonculture diagnostics will improve understanding of disease spectrum and transform patient care. Clin. Infect Dis. May; 56(9):1284-92, 2013.

CLANCY, CJ; SHIELDS RK; NGUYEN MH. Invasive Candidiasis in Various Patient Populations: Incorporating Non-Culture Diagnostic Tests into Rational Management Strategies. J. Fungi 2016, 2,10,2016.

CLANCY, CJ NGUYEN MH. Non-culture diagnostics for invasive candidiasis: promise and unintended consequences. J. Fungi, 4, 27, 2018.

CLARK TA, SLAVINSKI SA, MORGAN J, et al. Epidemiologic and molecular characterization of an outbreak of *Candida parapsilosis* bloodstream infections in a community hospital. J Clin. Microbial; 42:4468–72, 2004.

CLEVELAND, AA; FARLEY, MM; HARRISON LH, STEIN B, HOLLICK, R; LOCKHART SR, MAGILL, SS; DERADO G, PARK BJ, AND CHILLER.TM. Changes in Incidence and Antifungal Drug Resistance in Candidemia: Results from Population-Based Laboratory Surveillance in Atlanta and Baltimore, 2008–2011. Clin. Infect Dis. November 15; 55(10): 1352–1361, 2012.

CLEVELAND AA, HARRISON LH, FARLEY MM, HOLLICK R, STEIN B, CHILLER TM, LOCKHART SR PARK BJ. Declining Incidence of Candidemia and the Shifting Epidemiology of Candida Resistance in Two US Metropolitan Areas, 2008–2013: Results from Population-Based Surveillance. PLOS ONE, March 30, 2015.

CHARLES PE, DALLE F, AHO S, QUENOT JP, DOISE JM, AUBE H, OLSSON NO, BLETTERY B. Serum procalcitonin measurement contribution to the early diagnosis of candidemia in critically ill patients. Intensive Care Med. Oct; 32(10):1577-83,2006.

CHAVES, G.M.; SANTOS, F.P.; COLOMBO, A.L. The persistence of multifocal colonization by a single ABC genotype of *Candida albicans* may predict the transition from commensalism to infection. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. v.107, n.2, p.198-204, 2012

CHEN, MS NGUYEN Q, MARRIOTT, D; PLAYFORD, EG; ELLIS, D; SORRELL, T and the Australian Candidemia Study. Active Surveillance for Candidemia, Australia Sharon. Emerging Infectious Diseases www.cdc.gov/eid, Vol. 12, No. 10, October 2006.

CHEN LY, KUO SC, WU HS, YANG SP, CHAN YJ, CHEN LK, WANG FD. Associated clinical characteristics of patients with candidemia among different Candida species. J Microbiol Immunol Infect. Dec;46(6):463-8. doi: 10.1016/j.jmii.2012.08.001. 2013.

CHEN M; XU Y; HONG N, YANG Y ;LEI W ;DU L; ZHAO J; LEI X; XIONG L; CAI L, XU H; PAN W; LIAO W. Epidemiology of fungal infections in China. Front Med. Feb; 12(1):58-75,2018.

CHI, HW; YANG YS; SHANG ST; CHEN KH; YE H KM; CHANG FY; LIN JC. *Candida albicans* versus non-albicans bloodstream infections: The comparison of risk factors and outcome. Journal of Microbiology, immunology and infection 44, 369-375, 2011.

COLOMBO, AL; GUIMARAES. T. Epidemiologia das infecções hematogênicas por *Candida* spp. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 36 (5):599-607, 2003.

COLOMBO, A.L. et.al. Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of Candidemia in eleven medical center. Journal of Clinical Microbiology. v.44, n.8, p.2816-2823, 2006.

COLOMBO, AL; GUIMARAES, T; SILVA LRBF; MONFARINI LPA; CUNHA AKB; RADY P; ALVES T; ROSAS RC. Prospective observational study of candidemia in São Paulo, Brazil: Incidence rate, epidemiology, and predictor of mortality. Infection Control and Hospital epidemiology vol 28 N 5 57-576, 2007.

COLOMBO AL; GARNICA M; ARANHA, LF; CUNHA CA; BANDEIRA, AC; BORGHI D; CAMPOS, T; SENNA AL; DIDIER MEV; CARVALHO-DIAS, V; NUCCI, M. *Candida glabrata*: an emerging pathogen in Brazilian tertiary care hospitals. Medical Mycology, 51 -38-44, 2013a.

COLOMBO, A.L. et.al. Brazilian guidelines for the management of candidiasis: a joint meeting report of three medical societies – Sociedade Brasileira de Infectologia, Sociedade Paulista de Infectologia, and Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. The Brazilian Journal of Infectious Diseases; 17(3):283-312, 2013b.

COLOMBO AL, GUIMARÃES T, SUKIENIK T, PASQUALOTTO AC, ANDREOTTI R, QUEIROZ-TELLES F Et al. Prognostic factors and historical trends in the epidemiology of candidemia in critically ill patients: an analysis of five multicenter studies sequentially conducted over a 9-year period. Intensive Care Med; 40: 1489-98, 2014.

COLOMBO, AL; ALMEIDA JÚNIOR, JN; GUINEA, J. Emerging multidrug-resistant *Candida* species. Current Opinion in Infectious Diseases. 30(6):528–538, 2017.

CONDE-ROSA, A, AMADOR, PEREZ-TORRES, D, COLÓN, E, SÁNCHEZ-RIVERA, C, NIEVES-PLAZA, M, GONZÁLEZ-RAMOS, M, AND BERTRÁN-PASARELL, J. Candidemia Distribution, Associated Risk Factors, and Attributed Mortality at a University-Based Medical Center P R Health Sci J; 29(1): 26–29,2010.

CORZO-LEON DE, ALVARADO-MATUTE T, COLOMBO AL, CORNEJO-JUAREZ P, CORTES J, ECHEVARRIA JI, et al. (2014) Surveillance of *Candida* spp Bloodstream Infections: Epidemiological Trends and Risk Factors of Death in Two Mexican Tertiary Care Hospitals. PLoS ONE 9(5): e97325,2014.

CORCIONE S, ANGILLETTA R, RAVIOLO S, FILIPPINI C, FOSSATI L, DI PERRI G, CAVALLO R, DE ROSA FG. Epidemiology and risk factors for mortality in bloodstream infection by CP-Kp, ESBL-E, *Candida* and CDI: A single center retrospective study. Eur J Intern Med.; 48:44-49,2018.

DAS A, NIGHTINGALE P, PATEL M; JUMAA P. Epidemiology, clinical characteristics, and outcome of candidemia: experience in a tertiary referral center in the UK. International Journal of Infectious Diseases 15, e759–e763, 2011.

DA MATTA, DA; SOUZA, ACR; COLOMBO AL. Revisiting Species Distribution and Antifungal Susceptibility of *Candida* Bloodstream Isolates from Latin American Medical Centers J. Fungi, 3, 24,2017.

DELALOYE J AND CALANDRA T. Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. Virulence, 5:1, 161-169, 2014.

DE ALMEIDA JR, MOTTA AL. ROSSI, F; ABDALA E; PIERROTTI, LC; KONO, ASG; ESTEVEZ DIZ, MP; BENARD, G; DEL NEGRO GMB. *Candida haemulonii* infection in Brazil. CLINICS 2012;67(10):1229-1231.

DE ROSA FG, CORCIONE S, PAGANI N, DI PERRI G. From ESKAPE to ESCAPE, from KPC to CCC. Clin. Infect. Dis.;15;60(8):1289-90.2015.

DE HOOG, GS *et al.* Atlas of clinical fungi. 2. Ed. Virginia: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2000. 1126 p.

DOI, AM, PIGNATARI ACC, EDMOND MB, MARRA AR, CAMARGO LFA, SIQUEIRA RA, *et al.* Epidemiology and Microbiologic Characterization of Nosocomial Candidemia from a Brazilian National Surveillance Program. PLoS ONE 11(1): e0146909, 2016.

DIMOPOULOS G, NTZIORA F, RACHIOTIS G, ARMAGANIDIS A, FALAGAS ME. *Candida albicans* versus non-*albicans* intensive care unit-acquired bloodstream infections: differences in risk factors and outcome. Anesth Analg. Feb;106(2):523-9, 2008.

DINIZ, M.V. Dissertação de mestrado. Candidemias associadas a neoplasias hematológicas: perfil epidemiológico e sensibilidade antifúngica. Universidade Federal de Pernambuco. 2016. <https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/17563>.

DIEKEMA, DJ; MESSER, SA; BRUEGGEMANN, AB; COFFMAN, SL; DOERN, GV; HERWALDT, LA; AND PFALLER MA. Epidemiology of Candidemia: 3-Year Results from the Emerging Infections and the Epidemiology of Iowa Organisms Study. Journal of Clinical Microbiology, p. 1298–1302, 2002.

DUPONT, BF; LORTHOLARY. O; OSTROSKY-ZEICHNER, L; STUCKER F; AND YELDANDI, Treatment of candidemia and invasive candidiasis in the intensive care unit: post hoc analysis of a randomized controlled trial comparing micafungin and liposomal amphotericin B. Critical Care 2009, 13: R159, 2009.

EDMOND MB, WALLACE SE, MCCLISH DK, PFALLER MA, JONES RN, WENZEL RP. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three-year analysis. Clin Infect Dis. Aug; 29(2):239-44, 1999.

EGGIMANN P, GARBINO J, PITTET D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. Lancet Infect Dis; 3:685–702, 2003.

ELIAKIN-RAZ, N; BABAOFF R, YAHAV D; YANAI S; SHAKED H; BISHARA J. Epidemiology, microbiology, clinical characteristics, and outcomes of candidemia in internal medicine wards—a retrospective study. *International Journal of Infectious Diseases*, 52: 49-54, 2016.

ERDEM, I; OGUZOGLU N; OZTURK ENGIN D; OZGULTEKIN CA; SENGOZ INAN A; CERAN N; KAYA F GENCI; GOKT A. Incidence, Etiology and Risk Factors Associated with Mortality of Nosocomial Candidemia in a Tertiary Care Hospital in Istanbul, Turkey. *Med Princ. Pract*, 19: 463-467, 2010.

ESCHENAUER, GA; NGUYEN, MH, AND CLANCY, CJ. Is Fluconazole or an Echinocandin the Agent of Choice for Candidemia? *Annals of Pharmacotherapy*. Vol. 49(9) 1068 –1074, 2015.

ESTATUTO DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE - LEI 8069/90 | LEI Nº 8.069, DE 13 DE JULHO DE 1990.

EVANS, SE. Coping with Candida Infections. *Proceedings of the American Thoracic Society*, vol 7, 197-203, 2010.

FAGNANI, R; RESENDE,MR; TRABASSO,P; MIKAMI,Y;SCHREIBER,AZ; LOPES,AFL; MURAOSA,Y; KAMEI K;MORETTI ML.Mortality related to candidemia and risk factors associated with non-*Candida albicans*.Volume 47, Pages 930-931, Issue 12, 2015. <https://doi.org/10.3109/23744235.2015.1075662>.

FALAGAS, ME; APOSTOLOU KE; PAPPAS VD. Attributable mortality of candidemia: a systematic review of matched cohort and case-control studies. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, Vol 25, p 419-425, 2006.

FALAGAS ME, ROUSSOS N, VARDAKAS KZ. Relative frequency of *albicans* and the various non-albicans *Candida* spp among candidemia isolates from inpatients in various parts of the world: a systematic review. *Int J Infect Dis*. Nov; 14(11):e954-66,2010.

FELTON, T; TROKE PF; HOPE, WH. Tissue penetration of antifungal agents. Clinical microbiology reviews vol 27, n 1 68-88, 2014.

FERNANDEZ-CRUZ A; MARTIN-RABADAN, P; SUAREZ-SALAS, M; ROJAS-WETTIG, L; PEREZ MJ; GUINEA, J; GUEMBE, M; PELAEZ T; SANCHEZ-CARRILLO C 1 AND BOUZA e, on behalf of the COMIC (Colaboracion en Micologia) Study Group. Is it feasible to diagnose catheter-related candidemia without catheter withdrawal? Medical Mycology, 52, 489–495, 2014.

FISCHER B, VENDETTI N; BRYAN M; PRASAD PA. LOCALIO AR; DAMIANOS A; COFFIN SE; BELL LM; WALSH TJ; GROSS R, ZAOUTIS, TE. Central venous cateter retention and mortality in children with candidemia: a retrospective cohort analysis. Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society 1-6, 2015.

FRANÇA, JCB; Ribeiro, CEL; Queiroz-Tells, F. Candidemia in a Brazilian tertiary care hospital: incidence, frequency of different species, risk factors and antifungal susceptibility. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 41(1):23-28, 2008.

FRIDKIN, SK, WEISTEIN, RA. The Changing Face of Fungal Infections in Health Care Settings. Clinical Infectious Diseases, Volume 41, Issue 10, Pages 1455–1460, 2005.

GABALDON, T AND CARRETÉ L. The birth of a deadly yeast: tracing the evolutionary emergence of virulence traits in *Candida glabrata*. FEMS Yeast Research, 16, 1-9, 2016.

GAMALETSOU MN; WALSH, TJ; ZAOUTIS, T; PAGONI, M; KOTSOPOULOU, M; VOULGARELIS, M; PANAYIOTIDIS, P; VASSILAKOPOULOS, T; ANGELOPOULOU, MK; MARANGOS, M; SPYRIDONIDIS, A; KOFTERIDIS, D; POULI, A; SOTIROPOULOS, D; MATSOUKA, P; ARGYROPOULOU A; PERLORETZOU, S; LECKERMAN, K; MANAKA, A; OIKONOMOPOULOS, P; DAIKOS, G; PETRIKKOS G; and SIPSAS NV. A prospective, cohort, multicenter

study of candidaemia in hospitalized adult patients with hematological malignancies. *Clin Microbiol Infect*; 20: O50–O57, 2014.

GANGNEUX, JG; CORNET, M; BAILLY S; FRADIN, C; FÉGER, C; TIMSIT JF; LEROY O; SENDID B; BOUGNOUX ME. Clinical Impact of Antifungal Susceptibility, Biofilm Formation and Mannoside Expression of *Candida* Yeasts on the Outcome of Invasive Candidiasis in ICU: An Ancillary Study on the Prospective AmarCAND2 Cohort. *Front. Microbiol.* 11 December 2018 | <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02907>

GAREY, KW; REGE, M; PAI, MP; MINGO, DE; SUDA, KJ; TURPIN, RS; BEARDEN, DT. Time to Initiation of Fluconazole Therapy Impacts Mortality in Patients with Candidemia: A Multi-Institutional Study, *Clinical Infectious Diseases*, Volume 43, Issue 1, 1 July 2006, Pages 25–31, <https://doi.org/10.1086/504810>

GARNACHO-MONTERO, J; DÍAZ-MARTÍNA; RUIZ-PÉREZ DE PIAPPÓN B; y GARCÍA-CABRERA, E. Infección fúngica invasiva en los pacientes ingresados en las áreas de críticos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* ; 30(6):338–343, 2012.

GEDIK H, SIMŞEK F, YILDIRMAK T, et al. Primary or secondary antifungal prophylaxis in patients with hematological malignancies: efficacy and damage. *Ther Clin Risk Manag.* 2014; 10:305–312. Published 2014 Apr 28. doi:10.2147/TCRM.S59683.

GEDIK H. The expenditures related to the use of antifungal drugs in patients with hematological cancers: a cost analysis. *Clinicoecon Outcomes Res.* 2015; 7:537–543. Published 2015 Nov 3. doi:10.2147/CEOR.S92455

GIRÃO E, LEVIN AS, BASSO M, GOBARA S, GOMES LB, MEDEIROS EA, et al. Seven-year trend analysis of nosocomial candidemia and antifungal (fluconazole and caspofungin) use in Intensive Care Units at a Brazilian University Hospital. *Med Mycol. Sep*; 46(6):581-8, 2008.

GUINEA, J. Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia. *Clin Microbiol Infect*, 20 (Suppl. 6): 5–10, 2014.



GODOY, P; TIRABOSCHI, IN; SEVERO, LC; BUSTAMANTE B, CALVO B, ALMEIDA LP; DA MATTA, DA; COLOMBO, AL. Species Distribution and Antifungal Susceptibility Profile of *Candida* spp. Bloodstream Isolates from Latin American Hospitals. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 98(3): 401-405, 2003.

GOMINET, M; COMPAIN, G; BELOIN C AND LEBEAUX.D. Central venous catheters and biofilms: where do we stand in 2017? APMIS 125: 365–375,2017.

GOULART, VAM; RESENDE, RR. MALDI-TOF: uma ferramenta revolucionária para as análises clínicas e pesquisa do câncer. Nanocells News. Vol. 1, N. 3, 21, 2013.

GROLL AH, TRAGIANNIDIS A.Update on antifungal agents for paediatric patients. Clin Microbiol Infect. 2010 Sep; 16(9):1343-53. doi: 10.1111/j.1469-0691.2010.03334.x.

GUPTA, P; GUPTA, P; CHATTERJEE B, MITTAL, G; PRATEEK, S; MOHANTY, A. Evaluation of *Candida* Scoring Systems to Predict Early Candidemia: A Prospective and Observational Study at a Tertiary Care Hospital, Uttarakhand. Indian Journal of Critical Care Medicine. [Downloaded free from <http://www.ijccm.org> on Wednesday, June 27, 2018.

GUIMARÃES, T. Avaliação epidemiológica, clínica e microbiológica das infecções da corrente sanguínea por *Candida* spp na população idosa. Tese (doutorado) Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina. São Paulo, 2009.

HALPERN, AB; LYMAN, GH; WALSH, TJ; KONTOYIANNIS DP and WALTER RP. Primary antifungal prophylaxis during curative-intent therapy for acute myeloid leukemia Blood, 126:2790-2797; 2015.

HAJJEH RA, SOFAIR AN, HARRISON LH, LYON GM, ARTHINGTON-SKAGGS BA, MIRZA SA, ET AL. Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and in vitro susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. J Clin Microbiol. Apr; 42(4):1519-27, 2004.

HAWLEY, HB. New molecular method for detection of candidemia, but don't forget the blood cultures. *Clinical Infectious Diseases*, Volume 66, Issue 11, Pages 1687–1688, 2018.

HASSAN I, POWELL G, SIDHU M, HART WM, DENNING DW. Excess mortality, length of stay and cost attributable to candidemia. *Journal of Infection*, 59, 360-365, 2009.

HEALEY, KR; KATIYAR, SK; CASTANHEIRA, M; PFALLER, MA AND EDLIND, TD. *Candida glabrata* Mutants Demonstrating Paradoxical Reduced Caspofungin Susceptibility but Increased Micafungin Susceptibility. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, p. 3947–3949 Vol. 55, No. 8; 2011.

HE S, HANG JP, ZHANG L, WANG F, ZHANG DC, AND GONG FH. A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1,3-β-D-glucan for invasive fungal infection: focus on cutoff levels. *J Microbiol Immunol Infect.*; 48:351–61. 24, 2015.

HERKERT PF; RR MURO MD; RL , FORNARI G; VICENTE VA; QUEIROZ-TELLES F. In vitro susceptibility and molecular characterization of *Candida* spp. from candidemic patients Sensibilidad in vitro y caracterización molecular de aislamientos, de *Candida* procedentes de pacientes con candidemia. *Revista Iberoamericana de Micología*, Vol 32, Issue 4, 221-228, 2015.

HERMSEN ED, ZAPAPAS MK, MAIEFSKI M, RUPP ME, FREIFELD AG, KALIL AC. Validation and comparison of clinical prediction rules for invasive candidiasis in intensive care unit patients: a matched case-control study. *Crit Care*. 9;15(4):R198, 2011.

HINRICHSSEN, SYLVIA LEMOS et al. Candidemia em hospital terciário do nordeste do Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 41, 4, pp.394-398, 2008.

HOFFMANN-SANTOS, HD; Paula, CR; Yamamoto ACA; Tadano T; Hahn R. Six-year trend analysis of nosocomial candidemia and risk factor in two intensive care hospitals in Mato Grosso, midwest region of Brazil. *Mycopathologia* 176:409-415.2013.

HOPE, WW, CASTAGNOLA E; GROLL AH; ROLIDES E; AKOVA M; ARENDRUP MC; ARIKAN-AKDAGLI S; BASSETTI, M; BILE J; CORNELLY, AO; CUENCA-ESTRELLA M. DONNELLY JP; GARBIMO J; HERBRECHT R; JENSEN HE; KULLBERG BJ; LASS-FLÖR C; LORTHOLARY O; MEERSSEMANN W; PETRIKKOS G; RICHARDSON MD; VERWEIJ PE; VISCOLI C; ULMANN AJ. ESCMID guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: prevention and management of invasive infections in neonates and children caused by Candida spp. *Clin Microbiol Rev*:18 (suppl 7) 38-52, 2012.

HSU JF, LAI MY, LEE CW, CHU SM, WU IH, HUANG HR, LEE IT, CHIANG MC, FU RH, TSAI MH. Comparison of the incidence, clinical features and outcomes of invasive candidiasis in children and neonates. *BMC Infect Dis*. 2018 Apr 24; 18(1):194. doi: 10.1186/s12879-018-3100-2.

KAIA, AD; YUCEL, M; YUCEL I. Risk factors in a patient with fungemia caused by fluconazole-resistant *Candida albicans*. *Cent. Eur. Med* 3(3), 258-360, 2008.

KAO AS, BRANDT ME, PRUITT WR, CONN LA, PERKINS BA, STEPHENS DS, et al. The epidemiology of candidemia in two United States cities: results of a population-based active surveillance. *Clin. Infect Dis*. Nov; 29(5):1164-70, 1999.

KANG SJ, KIM SE, KIM UJ, JANG HC, PARK KH, SHIN JH, JUNG SI. Clinical characteristics and risk factors for mortality in adult patients with persistent candidemia. *J Infect.*; 75(3):246-253, 2017.

KAANICHE, FM; ALLELA, R; CHERIF S; ALGIA NB. Invasive candidiasis in critically ill patients. *Trends in Anaesthesia and critical care* 11, 1-5, 2016.

KARADAG-ONCEL E, KARA A, OZSUREKCI Y, ARIKAN-AKDAGLI S, CENGIZ AB, CEYHAN M, GUR D, CELIK M, OZKAYA-PARLAKAY A. Candidaemia in a paediatric centre and importance of central venous cateter removal. *Mycoses*. 2015 Mar; 58(3):140-8. doi: 10.1111/myc.12288. Epub 2015 Feb 10.

KONTOYIANNIS, DP; VAZIRI, I; HANNA, HA; BOKTOUR, M THORNBLY, J; HACHEM, R BODEY, GP; RAAD, II. Risk Factors for *Candida tropicalis* Fungemia in Patients with Cancer, *Clinical Infectious Diseases*, Volume 33, Issue 10, 15 November 2001, Pages 1676–1681, <https://doi.org/10.1086/323812>.

KONTOYIANNIS DP. Antifungal prophylaxis in hematopoietic stem cell transplant recipients: the unfinished tale of imperfect success. *Bone Marrow Transplantation* (2011) 46, 165–173

KARAGEORGOPOULOS DE, VOULOUMANOU EK, NTZIORA F, MICHALOPOULOS A, RAFAILIDIS PI, FALAGAS ME.  $\beta$ -D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*, 52:750–70. 23, 2011.

KATYAR, S; PFALLER, M AND EDLIND T. *Candida albicans* and *Candida glabrata* Clinical Isolates Exhibiting Reduced Echinocandin Susceptibility. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, p. 2892–2894 Vol. 50, No. 8, 2006.

KATYAR, SK; ALASTRUEY-IZQUIERDO, A; HEALEY, KR; JOHNSON, ME; PERLIN, DS and EDLINDA TD. Fks1 and Fks2 Are Functionally Redundant but Differentially Regulated in *Candida glabrata*: Implications for Echinocandin Resistance *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* p. 6304 – 6309, Vol. 56 Number 12, 2012.

KAUR H and CHAKRABARTI A. Strategies to Reduce Mortality in Adult and Neonatal Candidemia in Developing Countries. *J Fungi*, 3, 41:1-20, 2017.

KIBBLER, C. C., SEATON, S., BARNES, R. A., GRANSDEN, W. R., HOLLIMAN, R. E., JOHNSON, E. M., PERRY, J. D., SULLIVAN, D. J. & WILSON, J. A. Management

and outcome of bloodstream infections due to *Candida* species in England and Wales. *J Hosp Infect* 54, 18–24, 2003.

KONTOYIANNIS, DP. Antifungal Resistance: An Emerging Reality and A Global Challenge, *The Journal of Infectious Diseases*, Volume 216, Issue suppl\_3, 15 August 2017, Pages S431–S435, <https://doi.org/10.1093/infdis/jix179>.

KOTHAVADE, RJ; KURA, MM; VALAND AG AND PANTHAKI MH. *Candida tropicalis*: its prevalence, pathogenicity and increasing resistance to fluconazole *Journal of Medical Microbiology*, 59, 873–880, 2010.

KRCMERY V, BARNES AJ. Non-albicans *Candida* spp. causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. *J Hosp Infect*. Apr; 50(4):243-60 ,2002.

KUHN DM, MIKHERJEE PK, CLARK TA, et al. *Candida parapsilosis* characterization in an outbreak setting. *Emerg. Infect Dis*; 10:1074–81, 2004.

LABEÉ, AC; PÉPI, J; PATINÕ, C; CASTONGUAI, S; RESTIERI C; LAVERDIERE, M. A single-centre 10-year experience with *Candida* bloodstream infections. *Can J Infect Dis Med Microbiol* vol 20, No. 2, 2009.

LAMOTH F, CRUCIANI M, MENGOLI C, CASTAGNOLA E, LORTHOLARY O, RICHARDSON M, et al.  $\beta$ -Glucan antigenemia assay for the diagnosis of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies: a systematic review and meta-analysis of cohort studies from the Third European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-3). *Clin Infect Dis*; 54:633–43. 22, 2012.

LEÓN C, RUIZ-SANTANA S, SAAVEDRA P, ALMIRANTE B, NOLLA-SALAS J, ALVAREZ-LERMA F, GARNACHO-MONTERO J, LEÓN MA; EPCAN Study Group. A bedside scoring system ("Candida score") for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with *Candida* colonization. *Crit Care Med*. Mar; 34(3):730-7. 2006.

LEÓN C, RUIZ-SANTANA S, SAAVEDRA P, CASTRO C, LOZA A, ZAKARIYA I, ÚBEDA A, PARRA M, MACÍAS D, TOMÁS JI, REZUSTA A, RODRÍGUEZ A,

GÓMEZ F, MARTÍN-MAZUELOS E; Cava Trem Study Group. Contribution of *Candida* biomarkers and DNA detection for the diagnosis of invasive candidiasis in ICU patients with severe abdominal conditions. doi: 10.1186/s13054-016-1324-3. Crit Care, 15; 21(1):107, 2017.

LEROY O, MIRA JP, MONTRAVERS P, GANGNEUX JP, LORTHOLARY O; AMARCAND STUDY GROUP. Comparison of albicans vs. non-albicans candidemia in French intensive care units. Care.14(3): R98, 2010.

LEROY O; BAILLY S; GANGNEUX JP; MIRA JP; DEVOS P; DUPONT H; MONTRAVERS P, PERRIGAUKT PF; CONSTATIN JM; GUILLEMOT D, AZOULAY E; LORTHOLARY O; BENSOUSSAN C; TIOMSIT JF; and AmarCAND2 study group. Systemic antifungal therapy for proven or suspected invasive candidiasis: The AmarCAND 2 study. Ann. Intensive Care, 6:2, 2016.

LIU M, HUANG S, GUO L, et al. Clinical features and risk factors for blood stream infections of *Candida* in neonates. *Exp Ther Med*. 2015;10(3):1139–1144. doi:10.3892/etm.2015.2626

LOCKART, SR; MESSER, SA; PFALLER, MA; DIEKEMA DJ. Geographic Distribution and Antifungal Susceptibility of the Newly Described Species *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* in Comparison to the Closely Related Species *Candida parapsilosis*. Journal of Clinical Microbiology, No. 8 (46):2659–266), 2008.

LOCKHART, S.R. et al. Comparison of in vitro susceptibility characteristics of *Candida* species from cases of invasive candidiasis in solid-organ and stem cell transplant recipients. Transplant-Associated Infections Surveillance Network (TRANSNET) 2001-2006. J. Clin. Microbiol. 49:2404-2410., 2011.

LOCKHART, SR. Current Epidemiology of *Candida* Infection. Clinical Microbiology Newsletter 36:17, 2014.

LORTHOLARY, O. et al. Recent exposure to caspofungin or fluconazole influences the epidemiology of candidemia: a prospective multicenter study involving 2,441 patients. *Antimicrob. Agents Chemother*, 55 :532-538, 2011.

LORTHOLARY, O; RENAUDAT C; SITBON, K; YOANN M; MADEC Y; DENOEU-NDAM L; WOLFF M; FONTANET A; BRETAGNE S; DROMER F. The French Mycosis Study Group. Worrisome trends in incidence and mortality of candidemia in intensive care units (Paris area, 2002–2010). *Intensive Care Med*, 40:1303–1312, 2014.

LOVERO G, BORCHI E, BALBINO S, CIRASOLA D, DE GIGLIO O, PERDONI F, et al. (2016) Molecular Identification and Echinocandin Susceptibility of *Candida parapsilosis* Complex Bloodstream Isolates in Italy, 2007–2014. *PLoS ONE* 11(2): e0150218. doi:10.1371/journal.pone.0150218.

LUNEL, FMV; MEIS, JFG; VOSS. A; Nosocomial fungal infections: candidemia. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. Volume 34, Issue 3, Pages 213-220, 1999.

MA, CF, LI, F; SHI, L; HU, Y; WANG, Y; HUANG M; KONG, Q. Surveillance study of species distribution, antifungal susceptibility and mortality of nosocomial candidemia in a tertiary care hospital in China Chun-fang Ma<sup>1</sup>, Fang-qiu Li<sup>1,2\*</sup>, Li-ning Shi<sup>1</sup>, Yu-an Hu<sup>1</sup>, Ying Wang<sup>1</sup>, Mei Huang<sup>1</sup> and Qian-qian Kong. *BMC Infectious Diseases*, 13:337, 2013.

MACEDO-VINAS M, DENNING DW. Estimating the burden of serious fungal infections in Uruguay. *Journal of Fungi*, 4, 37, 2018.

MAKI, DG; WEISE, CE; SARAFIN HW. A semiquantitative culture meyhod for identifying intravenous cathether-related infection. *N Engl J Med* 296: 1305-1309, 1977.

MARCHETTI O, BILLE J, FLUCKIGER U, EGGIMANN P, RUEF C, GARBINO J, et al. Epidemiology of candidemia in Swiss tertiary care hospitals: secular trends, 1991-2000. *Clin Infect Dis*. Feb 1;38(3):311-20, 2004.

MARRA, AR; CAMARGO. LFA; PIGNATARI, ACC; SUKIENNIK, T; BEHAR, PRP; MEDEIROS, EAS; RIBEIRO, J; GIRÃO, E; CORREA, L; GUERRA, C; BRITES, C; PEREIRA, CAP; CARNEIRO, I; REIS, M; DE SOUZA, MA; TRANCHESI, R BARATA, CU; EDMOND, MB and the Brazilian SCOPE Study Group. Nosocomial Bloodstream Infections in Brazilian Hospitals: Analysis of 2,563 Cases from a Prospective Nationwide Surveillance Study. *Journal of Clinical Microbiology*, p. 1866–1871, 2011.

MATTHAIIOU DK, CHRISTODOULOPOULOU T, DIMOPOULOS G. How to treat fungal infections in ICU patients. *BMC Infect Dis*. 15:205. doi:10.1186/s12879-015-0934-8, 2015.

MATTOS, K; RODRIGUES, LC; OLIVEIRA, KMP; DINIZ PF; MARQUES, LI; ARAUJO AA; CHANG MR. Variability in the clinical distribution of *Candida* species and the emergence of azole-resistan *non-Candida albicans* species in public hospital in the Midwest region of Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 50 (6): 843-847,2017.

MEDRANO, DJA; BRILHANTE, RSN; CORDEIRO, RA, ROCHA, MFG, RABENHORST SH, SIDRIM JJC. Candidemia in a Brazilian hospital: the importance of *candida parapsilosis*. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo* 48(1):17-20, 2006.

MIKULSKA M, CALANDRA T, SANGUINETTI M, POULAIN D, VISCOLI C. The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia. *Crit Care*;14: R222, 2010.

MONTAGNA MT, LOVERO G, BORGHI E, AMATO G, ANDREONI S, CAMPION L, LO CASCIO G, LOMBARDI G, LUZZARO F, MANSO E, MUSSAP M, PECILE P, PERIN S, TANGORRA E, TRONCI M, IATTA R, MORACE G. Candidemia in intensive care unit: a nationwide prospective observational survey (GISIA-3 study) and review of the European literature from 2000 through 2013. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*.; 18(5):661-74, 2014.



MORRELL M, FRASER VJ, KOLLEF MH. Delaying the empiric treatment of candida bloodstream infection until positive blood culture results are obtained a potential risk factor for hospital mortality. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005, 49(9):3640–3645. doi:10.1128/AAC.49.9.3640-3645.2005.

MORETTI, ML, TRABASSO, P; LYRA, L; FAGNANI R; RESEND, MR; OLIVEIRA LG; SCHREIBER AZ. Is the incidence of candidemia caused by *Candida glabrata* increasing in Brazil? Five-year surveillance of Candida bloodstream infection in a university reference hospital in southeast Brazil. *Medical Mycology*, 51 225-230, 2013.

MOTTA, AL; Almeida GMD; Almeida júnior, JN; Burattini, M; Rossi, F. Candidemia epidemiology and susceptibility profile in the largest Brazilian teaching hospital complex. *Braz J Infect Dis*; 14 (5):441-448, 2010.

MOTTA, FA, DALLA-COSTA, LM; MURO MD; CARDOSO MN; PICHARSKI GL; JAEGER G; BURGER M. Risk factors for candidemia mortality in hospitalized children. *J pediatrics*; 93(2):165-171, 2017.

MURO MD, MOTTA FDE A, BURGER M, MELO AS, DALLA-COSTA LM. Echinocandin resistance in two *Candida haemulonii* isolates from pediatric patients. *J Clin Microbiol*. 2012;50(11):3783–3785.

MURRY, R; SCOPPETTUOLO, G; VENTURA G; FABBIANI M; GIOVANNENZE F. TACCARI, F; MILOZZI E; POSTERARO B; SANGUINETTI M; CAUDA R; FANTONI M. Initial antifungal strategy does not correlate with mortality in patients with candidemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*,35: 187-193, 2016.

MURRI R; CAMICI M; POSTERARO B; GIOVANNENZE F; TACCARI, F; VENTURA, G; SCOPPETTUOLO G; SANGUINETTI M; CAUDA R; FANTONI M. Performance evaluation of the (1,3)- $\beta$ -D-glucan detection assay in non-intensive care unit adult patients. *Infection and Drug Resistance* downloaded from <https://www.dovepress.com/> by 179.181.161.21, 2019.

MYLONAKIS E, CLANCY CJ, OSTROSKY-ZEICHNER L, GAREY KW, ALANGADEN GJ, VAZQUEZ JA, et al. T2 magnetic resonance assay for the rapid diagnosis of candidemia in whole blood: a clinical trial. Clin Infect Dis; 60:892–9, 2015.

NAKAMURA T; TAKAHASHI. Epidemiological study of *Candida* infectious in blood: susceptibilities of *Candida spp.* To antifungal agents, and clinical features associated with the candidemia. J Infec Chemother, 12:132-138,2006.

NIVOIX Y, LAUNOY A, LUTUN P, MOULIN JC, PHAI PANG KA, FORNECKER LM, WOLF M, LEVÊQUE D, LETSCHER-BRU V, BERETZ L, UBEAUD-SEQUIER G, HERBRECHT R. Adherence to recommendations for the use of antifungal agents in a tertiary care hospital. J Antimicrob Chemother. 2012 Oct; 67(10):2506-13. doi: 10.1093/jac/dks256. Epub 2012 Jul 9.

NUCCI. M; COLOMBO AL; SILVEIRA F; RICHTMANN R; SALOMÃO R; BRANCHINI ML, SPECTOR N. Risk factors for death in patients with candidemia. Infection Control and Hospital Epidemiology, vol 19 n 11 846-850, 1998.

NUCCI M, COLOMBO AL. Risk Factors for Breakthrough Candidemia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis; 21:209-11, 2002.

NUCCI, M; ANAISSIE, E; BETTS RF; DUPONT BF; WU, C; BUELL DN; KOVANDA L; LORTHOKLARY, O. Early Removal of Central Venous Catheter in Patients with Candidemia Does Not Improve Outcome: Analysis of 842 Patients from 2 Randomized Clinical Trials. Clinical Infectious Diseases; 51(3):295–303, 2010.

NUCCI M; THOMPSON-MOYA L, GUZMAN-BLANCO M, TIRABOSCHI IN, CORTES JA, ECHEVARRÍA J, SIFUENTES J, ZURITA J, SANTOLAYA ME, ALVARADO MATUTE T, DE QUEIROZ TELLES F, COLOMBO AL; Latin America Invasive Mycosis Network. Recommendations for the management of candidemia in adults in Latin America. Latin America Invasive Mycosis Network. Rev Iberoam Micol. ; 30(3):179-88, 2013a.

NUCCI, M.; QUEIROZ-TELLES, F.; ALVARADO-MATUTE, T.; TIRABOSCHI, I.N.; CORTES, J.; ZURITA, J.; GUZMAN-BLANCO, M.; SANTOLAYA, M.E.; THOMPSON, L.; SIFUENTES-OSORNIO, J.; ECHEVARRIA, J.I.; COLOMBO, A.L. Epidemiology of Candidemia in Latin America: A Laboratory-Based Survey. PLoS ONE, v.8, n.3, p.e 59373, 2013b.

NUCCI, M; ANAÏSSIE, E. How we treat invasive fungal diseases in patients with acute leukemia: the importance of an individualized approach. Blood, 18, 3858-3896, 2014.

NUCCI, M; NOUER, AS; ESTEVES, P; GUIMARAES, T; BREDAS, G; DE MIRANDA, BG; QUEIROZ-TELLES F; AND COLOMBO AL. Discontinuation of empirical antifungal therapy in ICU patients using 1,3-b-D-glucan. J Antimicrob Chemotherapy, 71: 2628 –2633, 2016a.

NUCCI, M; BRAGA PR, NÓUER SA; ANAÏSSIE E. Time of catheter removal in candidemia and mortality. Braz. J Infect Dis, 22(6) 455-461, 2016b.

ODDS, FC; HANSON, MF; DAVIDSON, AD; JACOBSEN, MD; WRIGHT, P; WHYTE, JA; GOW, NAR AND JONES, BL. One-year prospective survey of Candida bloodstream infections in Scotland. Journal of Medical Microbiology, 56, 1066–1075, 2007.

OLIVEIRA MM, SANTOS C, SAMPAIO P, ROMEO O, ALMEIDA-PAES R, PAIS C, et al. Development and optimization of a new MALDI-TOF protocol for identification of the *Sporothrix* species complex. Res Microbiol 2015;166(2):102-10.

ODD, L. Secular Trends in Utilization of Critical Care Services Among Candidemia-Associated Hospitalizations: A Population-Based Cohort Study, Jan;8(1):40-3, 2016.

OURIVES, APJ; GONÇALVES, SS; SIQUEIRA RA; SOUZA, ACR; CANZIANI MEF; MANFREDI SR; CORREA L, COLOMBO AL. High rate of Candida deep-seated infection in patients under chronic hemodialysis with extended central venous catheter use. Rev Iberoam. Micol.; 33(2):100-3, 2016.

OSTROSKY-ZEICHNER, L; PAPPAS, PG. Invasive candidiasis in the Intensive Care unit. Crit. Care Med, vol. 34 N 3 857-863, 2006.

OSTROSKY-ZEICHNER L, PAPPAS PG, SHOHAM S, REBOLI A, BARRON MA, SIMS C, WOOD C, SOBEL JD. Improvement of a clinical prediction rule for clinical trials on prophylaxis for invasive candidiasis in the intensive care unit. Mycoses; 54(1):46-5, 2009.

OXMAN, DA; CHOW, JN; FRENDI, G; HADLEY S; HERSHKOVITZ S; IRELAND P; MCDERMOTT LA; TSAI K; MARTY FM; KONTOYIANNIS DP; GOLAN Y. Candidemia associated with decreased in vitro fluconazole susceptibility: is *Candida* speciation predictive of the susceptibility pattern? J Antimicrob Chemother 65: 1460-1465, 2010.

PAHO. Pan American Health Organization. World Health Organization. Epidemiological alert: *C. auris* outbreak in health care services. 3 October, Washington DC. PAHO/WHO; 1-4, 2016.

PARAMYTHIOTOU E, FRANTZESKAKI F, FLEVARI A, ARMAGANIDIS A, DIMOPOULOS G. Invasive fungal infections in the ICU: how to approach, how to treat. *Molecules*. 2014; 19(1):1085–1119. Published 2014 Jan 17. doi:10.3390/molecules19011085.

PAPPAS PG, KAUFFMAN CA, ANDES DR, CLANCY CJ, MARR KA, OSTROSKY-ZEICHNER L, REBOLI AC, SCHUSTER MG, VAZQUEZ JA, WALSH TJ, ZAOUTIS TE, SOBEL JD. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin. Infect Dis.62(4):e1-50, 2016.

PASQUALOTTO, AC; ZIMMERMAN RA; AQUINO, VR; WILTGEN, D; CECHINEL R; ROCHA IG, SUKIENNIK, TC. Take control over your fluconazole prescriptions: The growing importance of *Candida glabrata* as an agent of candidemia in Brazil. Infection Control and Hospital Epidemiology, vol 29 No. 9, 2008.

PÉREZ, J.C.; KUMAMOTO, C.A.; JOHNSON, A.D. *Candida albicans* commensalism and pathogenicity are intertwined traits directed by a tightly knit transcriptional regulatory circuit. PLoS Biol., v.11, n.3, e1001510, 2013.

PERON, IH; F REICHERT-LIMA, F; BUSO-LOPES, AF; NAGASAKO, CK; LYRA, L; MORETTI, ML; SCHREIBER, AZ. Resistance Surveillance in *Candida albicans*: A Five-Year Antifungal Susceptibility Evaluation in a Brazilian University Hospital PLOS ONE, July 14, 2016.

PFALLER MA, Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs, and modes of transmission. Clinical Infectious diseases; 22 (suppl 2): S89-94, 1996.

PFALLER MA, JONES RN, DOERN GV, SADER HS, MESSER SA, HOUSTON A, et al. Bloodstream infections due to *Candida* species: SENTRY antimicrobial surveillance program in North America and Latin America, 1997-1998. Antimicrob Agents Chemother; 44(3):747-51, 2000.

PFALLER MA, DIEKEMA DJ, JONES RN, SADER HS, FLUIT AC, HOLLIS RJ, et al. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial surveillance program. J Clin Microbiol; 39(9):3254-9, 2001.

PFALLER MA, DIEKEMA DJ, JONES RN, MESSER SA, HOLLIS RJ. Trends in antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from pediatric and adult patients with bloodstream infections: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997 to 2000. J Clin Microbiol; 40(3):852-6,2002.

PFALLER, M.A.; MOET, G.J.; MESSER, S.A.; JONES, R.N.; CASTANHEIRA, M. *Candida* bloodstream infections: comparison of species distributions and antifungal resistance patterns in community-onset and nosocomial isolates in the SENTRY antimicrobial surveillance program, 2008-2009. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. v.55, n.10, p. 561–566, 2011.

PHALLER, MA; ANDES, DR; DIEKEMA DA; HORN, DL; REBOLI AC; ROTSTEIN C; FRANKS B; AZIE NE. Epidemiology and outcomes of invasive candidiasis due to non-albicans species of candida in 2496 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH) Registry 2004-2008. Plos one, vol 9, issue 7, 2014.

PFALLER, MA AND CASTANHEIRA M. Nosocomial Candidiasis: Antifungal Stewardship and the Importance of Rapid Diagnosis. Medical Mycology: 54, 1–22 doi: 10.1093/mmy/myv076, 2016.

PFALLER, MA. DIEKEMA, DJ; TURNIDGE, JD; MARIANA CASTANHEIRA, M; JONES, RN. Twenty Years of the SENTRY Antifungal Surveillance Program: Results for Candida Species from 1997–2016. SENTRY Program Candida Surveillance (1997–2016) • OFID: 6 (Suppl 1) • S79, 2019.

PINCUS, DH; ORENGA, S; CHALELLIER, S. Yeast identification – past, present, and future methods. Medical Mycology 2007;(45): 2:97-121.

PINHATI, HMS; CASULARI, LA; SOUZA, ACR; SIQUEIRA RA; DAMASCENO, CMG; COLOMBO AL. Outbreak of candidemia caused by fluconazole resistant *Candida parapsilosis* strains in an intensive care unit. BMC Infectious Diseases 16:433, 2016.

POIKONEN, EIRA & LYTIKÄINEN, OUTI & ANTTILA, VELI-JUKKA & RUUTU, PETRI. Candidemia in Finland, 1995–1999. Emerging infectious diseases. 9. 985-90,2003.

RAINERI SM, CORTEGIANI A, VITALE F, IOZZO P, GIARRATANO A. Procalcitonin for the diagnosis of invasive candidiasis: what is the evidence? *J Intensive Care*. 2017 Sep 25; 5:58. doi: 10.1186/s40560-017-0252-x. PubMed PMID: 28975031; PubMed Central PMCID: PMC5613326.

RENAU AI; GARCÍA-VIDAL C; SALAVERT M. Enfermedades invasivas por hongos levaduriformes em pacientes quemados graves. Ver Iberoam Micol; 33 (3): 160-169,2016.

RIERA, F; MEDEOT M; SARTORI L; BERGALLO, C; MINOLI, J; VILCHEZ V; SÁNCHEZ P; ABIEGA C; PINCHEIRA C; CORREA S. CANDIDEMIA EPIDEMIOLOGY IN Córdoba Argentina. Surveillance study of five Institutions. Rev Fac. Cien. Med, 71, 89-93, 2014.

RIERA F; CAEIRO, JP; DENNING, DW. Burden of serious fungal infections in Argentina, Journal of Fungi, 4,51,2018.

RODRIGUES; CF; SILVA S; HENRIQUES, M. *Candida glabrata*: a review of its features and resistance. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, Volume 33, Issue 5, pp 673–688, 2014.

RODRIGUEZ L, BUSTAMANTE B, HUAROTO L, AGURTO C, ILLESCAS R, RAMIREZ R, et al. A multi-centric Study of *Candida* bloodstream infection in Lima-Callao, Peru: Species distribution, antifungal resistance and clinical outcomes. PLoS ONE 12(4): 2017.

RODRIGUES CF, RODRIGUES ME, SILVA S, HENRIQUES M. *Candida glabrata* Biofilms: How Far Have We Come? *J Fungi (Basel)*; 3(1):11. Published 2017 Mar 1. doi:10.3390/jof3010011,2017.

RUAN; SU; LEE, LN; JERNG JS; YU, CJ; HSUEH PR. *Candida glabrata* fungaemia in intensive care units. Clin Microbiol Infect; 14: 136–140, 2007.

RUAN, SY; HSUEH PR. Invasive Candidiasis: An overview from Taiwan. J Formos Med Assos, vol. 108, N 6, p 443-451, 2009.

RUIZ-GAITÁN A, MORET AM, TASIAS-PITARCH M, ALEIXANDRE-LÓPEZ AI, MARTÍNEZ-MOREL H, CALABUIG E, SALAVERT-LLETÍ M, RAMÍREZ P, LÓPEZ-HONTANGAS JL, HAGEN F, MEIS JF, MOLLAR-MASERES J, PEMÁN J.

An outbreak due to *Candida auris* with prolonged colonisation and candidaemia in a tertiary care European hospital. *Mycoses*. Jul; 61(7):498-505. doi: 10.1111/myc.12781.,2018

SADER HS; JONES RN; GALES AC; SILVA JB; PIGNATARI AC; the SENTRY Participants Group (Latin America). SENTRY antimicrobial surveillance program report: Latin American and Brazilian results for 1997 through 2001. *Braz. J Infect Dis* vol.8 no.1, 2004.

SAIMAN L, LUDINGTON E, PFALLER M. Risk factors for candidemia in neonatal intensive care unit patients. *Pediatr Infect Dis J*; 19: 319–24, 2000.

SANDVEN, P; BEVANGER, L DIGRANES, A, HAUKLAND, HH, MANNSÅKER, T GAUSTAD, P. Candidemia in Norway (1991 to 2003): Results from a Nationwide Study and the Norwegian Yeast Study Group. *Journal of Clinical Microbiology*, p. 1977–1981, 2006.

SANTOLAYA, ME; ALVARADO, T; QUEIROZ-TELLES; F; COLOMBO; AL; ZURITA; J; TIRABOSCHI; IN; CORTES; JA; THOMPSON; L; GUZMAN; M; SIFUENTES; J; ECHEVARRÍA; JI; NUCCI, M. Active Surveillance of Candidemia in Children from Latin America: A Key Requirement for Improving Disease Outcome. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 33(2): e40–e44, 2014.

SBRANA F, SOZIO E, BASSETTI M, RIPOLI A, PIERALLI F, AZZINI AM, MORETTINI A, NOZZOLI C, MERELLI M, RIZZARDO S, BERTOLINO G, CARRARA D, SCARPARO C, CONCIA E, MENICHETTI F, TASCINI C. Independent risk factors for mortality in critically ill patients with candidemia on Italian Internal Medicine Wards. *Intern Emerg Med*. Mar; 13(2):199-204, 2018.

SCHULTZ, V; COLOMBO, AL AND PASQUALOTTO AC. Invasive candidosis: contrasting the perceptions of infectious disease physicians and intensive care physicians. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 46(4):466-471, 2013.



SIDRIN, JJC e MOREIRA, JL. Fundamentos Clínicos e Laboratoriais da Micologia Médica. Guanabara Koogan SA, 1999. Cap. 9. Pág 76-89.

SILVA CM, CARVALHO-PARAHYMA AM, MACÊDO DP, LIMA-NETOR RG, FRANCISCO EC, MELO AS, DA CONCEIÇÃO M SILVA M, JUCÁ MB, MELLO LR, AMORIM RM, NEVES RP. Neonatal Candidemia Caused by *Candida haemulonii*: Case Report and Review of Literature. *Mycopathologia*. 2015 Aug; 180(1-2):69-73. doi: 10.1007/s11046-015-9872-7. Epub 2015 Feb 11.

SIRI, L, LEGARRAGA P; GARCIA, P; GOZÁLEZ T; RABAGLIATI R. Cambios clínicos y epidemiológicos de candidemias em pacientes adultos desde 2000 a 2013. *Rev. Chilena Infectol*; 34 (1):19-26, 2017.

SHIN JH, KEE SJ, SHIN MG, et al. Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from non-neutropenic patients: comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources. *J Clin Microbiol*; 40:1244–8, 2002.

SLAVIN MA, SORRELL TC, MARRIOTT D, THURSKY KA, NGUYEN Q, ELLIS DH, MORRISSEY CO, CHEN SC; Australian Candidemia Study, Australasian Society for Infectious Diseases. *Candidaemia* in adult cancer patients: risks for fluconazole-resistant isolates and death. *J Antimicrob Chemother*. 2010 May; 65(5):1042-51. doi: 10.1093/jac/dkq053. Epub 2010 Mar 4.

STEMPEL JM. FARMAKIOTIS D; TARRAND J, KONTOYIANNIS DP. KONTOYIANNIS DP. Time-to-reporting of blood culture positivity and central venous catheter-associated *Candida glabrata* fungemia in cancer patients. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. Volume 85, Issue 3, July 2016, Pages 391-393

SULLIVAN D; COLEMAN D. MINIREVIEW *Candida dubliniensis*: Characteristics and Identification. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, p. 329–334 Vol. 36, No. 2. 1998.

SWINNE D, WATELLE M, SUETENS C, MERTENS K, FONTEYNE PA, NOLARD N. A one-year survey of candidemia in Belgium in 2002. *Epidemiol Infect.* Dec;132(6):1175-80, 2004.

TADEC, L; TALARMIN JP; GASTINNE, T; BRETONNIÉRE, C; MIEGEVILLE, M; LE PAPE, P; MORIO, F. Epidemiology, risk factor, species distribution, antifungal resistance and outcome of Candidemia at a single French hospital: a 7-year study. *Mycoses*, Vol 59, Pages 296-303, 2016.

THOMAZ DY, DE ALMEIDA JN JR, LIMA GME, NUNES MO, CAMARGO CH, GRENFELL RC, BENARD G AND DEL NEGRO GMB. An Azole-Resistant *Candida parapsilosis* Outbreak: Clonal Persistence in the Intensive Care Unit of a Brazilian Teaching Hospital. *Front. Microbiol.* 9:2997. doi: 10.3389/fmicb.2018.02997, 2018.

TIGEN, E.T; BIULGIN H. GURIN HO; DOGRU A; OZBEN B; CERIKCIOGLU N, KORTEN V. Risk factors, characteristics and outcomes of candidemia in an adult intensive care unit in Turkey. *AJIC*, 45(6): e61-e63, 2017.

TISSOT, F; AGRAWAL, S; PAGANO, L; PETRIKKOS, G; GROLL, AH; SKIADA, A; LASS-FLÖRL, C; CALANDRA, T; VISCOLI C AND HERBRECHT, R. ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. *Haematologica* 2017 Volume 102(3):433-444 doi:10.3324/haematol.2016.152900.

TORTORANO AM; CASPANI, L; RIGONE AL; BIRAGI W, SICIGNANO A; VIVIANI MA. Candidosis in the intensive care unit: a 20-year survey. *Journal of Hospital Infection* 57, 8-13, 2004a.

TORTORANO AM, PEMAN J, BERNHARDT H, KLINGSPOR L, KIBBLER CC, FAURE O, et al. Epidemiology of candidaemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 23(4):317-22, 2004b.

TUMBARELLO M, SANGUINETTI, M; TRECARICHI, EM; LA SORDA, M; ROSSI, M; DE CAROLI, E, DONATI, KG; FADDA, G; CAUDA R AND POSTERARO B. Fungaemia caused by *Candida glabrata* with reduced susceptibility to fluconazole due to altered gene expression: risk factors, antifungal treatment and outcome. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 62, 1379–1385 doi:10.1093/jac/dkn381,2008.

TUMBARELLO M, FIORI B, TRECARICHI EM, POSTERARO P, LOSITO AR, ET AL. Risk Factors and Outcomes of Candidemia Caused by Biofilm-Forming Isolates in a Tertiary Care Hospital. PLoS ONE 7(3): e33705. doi: 10.1371/journal.pone.0033705,2012.

ULMANN AJ; CORNELLY, OA. Antifungal prophylaxis for invasive mycoses in high-risk patients. Curr Opin Infect Dis. 2006 Dec;19(6):571-6.

VALLABHANENI, S; CLEVELAND, A.A; FARLEY MM; HARRISON, LH; SCHAFFNER, W; BELDAVS, ZG; DERADO, G; PHAM, CD; LOCKHART, SR AND SMITH RM. Epidemiology and Risk Factors for Echinocandin Nonsusceptible *Candida glabrata* Candidemia. OFID, 1-7, 2015.

VALLABHANENI, 2015. Epidemiology and Risk Factors for Echinocandin Nonsusceptible *Candida glabrata* Candidemia. Open Forum Infectious Diseases, 2015. DOI: 10.1093/ofid/ofv163.

VALERIO M, MUÑOZ P, RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ C, SANJURJO M, GUINEA J, BOUZA E; COMIC study group (Collaborative group on Mycosis). Training should be the first step toward an antifungal stewardship program. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2015 Apr;33(4):221-7. doi: 10.1016/j.eimc.2014.04.016. Epub 2014 Jul 24.

VAN ASBECK, E; CLEMONS, KV; STEVENS DA. *Candida parapsilosis*: a review of its epidemiology, pathogenesis, clinical aspects, typing and antimicrobial susceptibility. Critical Reviews in Microbiology. Volume 35, Issue 4 283-309, 2009.

VELASCO, E; PORTUGAL, RD. Factors prompting early central venous catheter removal from cancer patients with candidaemia. , Volume 43, Issue 1, 2011.

VILLALOBOS, JM; CASTRO JA; PELÁEZ C; SOMOGYI T; SANDOVAL L. *Candida parapsilosis*: principal causa de candidemia em um hospital de referência para adultos de Costa Rica. Rev Chilena Infectol; 33 (2):159-165, 2016.

VINCENT, JL; RELLO, J; MARSHALL J; SILVA E; ANZUETO A; MARTIN CD; MORENO R; LIPMAN J; GOMERSALL C; SAKR Y, REINHART K. International Study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. JAMA; 302 (21):2323-2329 2009.

XAVIER, PCN; CHANG MR; NUNES, MO; PALHARES DB; SILVA, RA; BONFIM GF; ALMEIDA JUNIOR NF. Candidemia neonatal, em hospital público do Mato Grosso do Sul. Ver Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 41(5):459-463, 2008.

XIA FQ, YE CY, XIE WW, et al. Successful fluconazole treatment of catheter-related candidemia caused by *Candida haemulonii*: report of 2 neonatal cases. Arch Argent Pediatr 2018; 116(5): e663-e666.

YANG, ZT; WU, L; LIU, XY; ZHOU, M; LI J; WU JY; CAI, Y; MAO EQ; CHEN EZ. LORTHOLARY O. Epidemiology, species distribution and outcome of nosocomial *Candida spp* bloodstream infection in Shangai. BMC Infectious Diseases, 14:241, 2014.

YAPAR N. Epidemiology and risk factors for invasive candidiasis. Therapeutics and Clinical Risk Management: 10 95–105, 2014.

YAZDANI, MR; KHORVASH F; HAKAMIFARD A. Serum procalcitonin levels of patients with candidemia hospitalized in Intensive Care Units. J Med Sci 2018; 38(3):113-116 DOI: 10.4103/jmedsci.jmedsci\_97\_17

YILDIRIM M, SAHIN I; KUCUKBAYRAK A; OZDEMIR D; YAVUZ MT; OKSUZ S; CAKIR S. Hand carriage of *Candida* species and risk factors in hospital personnel. Mycoses, 50. 189-192, 2007.

WALSH TJ, KATRAGKOU A, CHEN T, SALVATORE CM, ROILIDES E. Invasive Candidiasis in Infants and Children: Recent Advances in Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *J Fungi (Basel)*. 2019; 5(1):11. Published 2019 Jan 24. doi:10.3390/jof501001.

WEY SB, MORI M, PFALLER MA, WOOLSON RF, WENZEL RP. Risk factors for hospital- acquired candidemia. A matched case-control study. *Arch Intern Med*; 149:2349-53, 1989.

WHALEY SG, BERKOW EL, RYBAK JM, NISHIMOTO AT, BARKER KS AND ROGERS PD. Azole Antifungal Resistance in *Candida albicans* and Emerging Non-*albicans Candida* Species. *Front. Microbiol.* 7:2173, 2017.

WILLE, P M; GUIMARÃES, T; FURTADO, GHC; COLOMBO, AL. Historical trends in the epidemiology of candidaemia: analysis of an 11-year period in a tertiary care hospital in Brazil. *Mem Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol. 108(3): 288-292, 2013.

WISPLINGHOFF H, BISCHOFF T, TALLENT SM, SEIFERT H, WENZEL RP, EDMOND MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis*, 1; 39(3):309-17, 2004.

WU, Z; LIU, Y; FENG X; LIU Y; WANG S; ZHU, X; CHEN, Q; PAN S. Candidemia: incidence rates, type of species, and risk factors at a tertiary care academic hospital in China. *International journal of Infectious Diseases*, 22, 4-8, 2014.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2013.11.011>

ZACHARIOUDAKIS, IM; ZERVOU, FN; MYLONAKIS E. Use of T2 Magnetic Resonance Assay. Overview of available data and clinical implications. *Journal of fungi*, 4, 45, 1-10; 2018.


ZAITS, CLARISSE. Campbell, I; Marques AS; Ruiz LRB; Framil VMS. Editora Guanababara-Koogan. Segunda edição. *Compendio de Micologia Médica*, 2010.

ZAOUTIS T. Candidemia in children, Current Medical Research and Opinion, 26:7, 1761-1768, DOI: 10.1185/03007995.2010.487796, 2010

ZICCARDI, M; SOUZA, LO; GANDRA RM; BAPTISTA AR; NUNES AP; RIBEIRO MA; BRANQUINHA MH; SANTOS AL. *Candida parapsilosis* (sensu lato) isolated from hospitals located in the Southeast of Brazil: Species distribution, antifungal susceptibility and virulence attributes, International Journal of Medical Microbiology, Vol 305, Issue 8, Pages 848-859: 2015, <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2015.08.003>.

ZUZA-ALVES, DL; SILVA-ROCHA WP; AND CHAVES GM. An Update on *Candida tropicalis* based on Basic and Clinical Approaches. Frontiers in Microbiology. Volume 8. 2017.

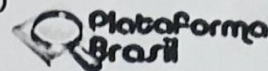
**ANEXO I – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**

<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"><div><b>UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ/ UNIOESTE - CENTRO DE</b></div><div></div></div>
<b>PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP</b>
<b>DADOS DO PROJETO DE PESQUISA</b>
<b>Título da Pesquisa:</b> REDE CANDIDEMIA PARANÁ
<b>Pesquisador:</b> Carla Sakuma de Oliveira
<b>Área Temática:</b>
<b>Versão:</b> 4
<b>CAAE:</b> 54867516.1.1001.0107
<b>Instituição Proponente:</b> hospital universitario do oeste do parana
<b>Patrocinador Principal:</b> Financiamento Próprio
<b>DADOS DO PARECER</b>
<b>Número do Parecer:</b> 1.697.029
<b>Apresentação do Projeto:</b> Projeto de mestrado reapresentado em sua 4ª versão.
<b>Objetivo da Pesquisa:</b> um estudo de vigilância clínica e epidemiológica prospectivo baseado em dados clínicos e laboratoriais de março-2016 a Dezembro 2016 em 10 centros médicos localizados em 5 cidades diferentes do estado do Paraná.
<b>Avaliação dos Riscos e Benefícios:</b> trabalhará somente com dados secundários.
<b>Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:</b> Estudo multicêntrico com dados secundários.
<b>Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:</b> apresentou todos as autorizações que estavam ausentes nas versões anteriores com assinaturas originais.
<b>Recomendações:</b> problemas de preenchimento do formulário na plataforma Diz que é multicêntrico, mas só inclui o HU de Londrina no formulário.
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"><div><b>Endereço:</b> UNIVERSITARIA <b>Bairro:</b> UNIVERSITARIO <b>UF:</b> PR      <b>Município:</b> CASCAVEL <b>Telefone:</b> (45)3220-3272</div><div><b>CEP:</b> 85.819-110 <b>E-mail:</b> cep.prpgg@unioeste.br</div></div>

Página 01 de 03



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO  
OESTE DO PARANÁ/  
UNIOESTE - CENTRO DE**



Continuação do Parecer: 1.697.029

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Recomendo Aprovação

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_660528.pdf	02/08/2016 14:15:24		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO.doc	02/08/2016 14:14:57	DERCI MAEBERG DE MORAES	Aceito
Outros	CAMPOS.pdf	01/08/2016 09:34:24	DERCI MAEBERG DE MORAES	Aceito
Outros	CLINICAS.pdf	01/08/2016 09:33:24	DERCI MAEBERG DE MORAES	Aceito
Outros	MARINGA.pdf	01/08/2016 09:32:51	DERCI MAEBERG DE MORAES	Aceito
Outros	ERASTO.pdf	01/08/2016 09:08:43	DERCI MAEBERG DE MORAES	Aceito
Outros	Dados.pdf	08/07/2016 10:28:57	DERCI MAEBERG DE MORAES	Aceito
Declaração de Pesquisadores	autoriza.JPG	10/05/2016 20:11:23	DERCI MAEBERG DE MORAES	Aceito
Outros	compromisso.docx	10/05/2016 10:17:47	DERCI MAEBERG DE MORAES	Aceito
Outros	termo.jpg	10/05/2016 10:06:16	DERCI MAEBERG DE MORAES	Aceito
Outros	declacao.pdf	10/05/2016 09:51:53	DERCI MAEBERG DE MORAES	Aceito
Outros	autorizacao.pdf	10/05/2016 09:49:23	DERCI MAEBERG DE MORAES	Aceito
Declaração de Pesquisadores	autorizacao.jpg	10/05/2016 09:47:57	DERCI MAEBERG DE MORAES	Aceito
Declaração de Pesquisadores	declacarao.pdf	10/05/2016 09:44:54	DERCI MAEBERG DE MORAES	Aceito
Outros	TERMO.pdf	24/02/2016 09:38:53	DERCI MAEBERG DE MORAES	Aceito
Folha de Rosto	ROSTO.pdf	24/02/2016 09:37:56	DERCI MAEBERG DE MORAES	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

Endereço: UNIVERSITARIA

Bairro: UNIVERSITARIO

UF: PR

Município: CASCAVEL

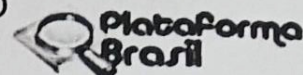
Telefone: (45)3220-3272

CEP: 85.819-110

E-mail: cep.prppg@unioeste.br



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO  
OESTE DO PARANÁ/  
UNIOESTE - CENTRO DE



Continuação do Parecer: 1.697.029

**Necessita Apreciação da CONEP:**  
Não

CASCADEL, 25 de Agosto de 2016

Assinado por:  
**Fausto José da Fonseca Zamboni**  
(Coordenador)

**Prof. Dr. Fausto José da Fonseca Zamboni**  
Coord. do Comitê de Ética  
em Pesquisa com Seres Humanos  
Portaria nº 3673/2016 - GRE

## ANEXO II – INSTRUMENTO DE COLETA DE DADOS

## REDE CANDIDEMIA PARANÁ

1	Hospital Universitário do Oeste do Paraná- Cascavel
2	Hospital do Câncer- Cascavel
3	Hospital Universitário Regional Norte- Londrina
4	Hospital do Câncer- Londrina
5	Hospital Universitário dos Campos Gerais-Ponta Grossa
6	Hospital Municipal -Foz do Iguaçu
7	Hospital de Clínicas-Curitiba
8	Hospital Erasto Gaertner-Curitiba

1) Informações Demográficas

Hospital:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

Paciente:

Nome:		
Idade:	Gênero:	Raça:
( ) Anos	( ) M ( ) F	( ) Branco
( ) Meses		( ) Negro
( ) Dias		( ) Mulato
		( ) Asiático
		( ) Índio
		( ) outra
		( ) Desconhecido

2) Informações microbiológicas:

Data da candidemia	dd.mm.aaaa
Espécie identificada	( ) albicans ( ) tropicalis ( ) glabrata ( ) guillemontii ( ) kruzei ( ) famata ( ) outras. Especificar:
Fonte da amostra	( ) sangue periférico ( ) cateter ( ) ambos ( ) desconhecido

3) Informações da hospitalização

Até 14 dias ANTES da candidemia incidente, o paciente apresentou bacteremia?

( ) Sim ( ) Não ( ) Desconhecido	Quando?	Microrganismo isolado da bacteremia
	( ) No mesmo dia da candidemia ( ) Antes da candidemia incidente	( ) S. aureus ( ) Enterococcus ( ) E. coli ( ) SCN ( ) Klbsiella sp ( ) P. aeruginosa ( ) outro Gram + ( ) outro Gram – ( ) anaeróbio

Data admissão	Data alta

Local da internação
( ) Enfermaria clínica ( ) enfermaria cirúrgica ( ) Transplante ( ) Diálise ( ) Neonatal ( ) Pediátrica ( ) Emergência ( ) UTI
Tipo de UTI: ( ) Geral ( ) Clínica ( ) Cirúrgica ( ) Neonatal ( ) Pediátrica ( ) Cardíaca ( ) Desconhecida

História Médica Passada	( ) Câncer ( ) Neoplasia hematológica ( ) Tumor sólido ( ) Desconhecido	
<u>Neoplasia hematológica:</u> ( ) LMA ( ) LLA ( ) LMC ( ) LLC ( ) Leucemia aguda, outras ( ) LNH ( ) linfoma Hodgkin ( ) Mieloma múltiplo ( ) Outros	<u>Tumor sólido:</u> ( ) Melanoma ( ) Pâncreas ( ) cabeça e pescoço ( ) Pulmão ( ) Renal ( ) Adrenal ( ) gastrointestinal ( ) fígado ( ) bexiga ( ) mama ( ) ovário, útero ( ) outros	<u>Transplante:</u> ( ) Não ( ) Rim ( ) Coração ( ) Pulmão ( ) fígado ( ) pâncreas ( ) TCTH autólogo ( ) TCTH alogênico ( ) outros
<u>Comorbidades</u> ( ) HIV/AIDS ( ) Diabetes . Insulina ( ) S ( ) N ( ) doença cardíaca ( ) Doença pulmonar ( ) Doença hepática ( ) Cirrose ( ) Insuficiência Renal ( ) IRC com diálise crônica ( ) Doença auto-imune ( ) Doença neurológica ( ) Queimadura ____% superfície	<u>Cirurgia:</u> ( ) S ( ) N ( ) abdominal ( ) Cardio-torácica ( ) Genito-urinária ( ) Ginecológica ( ) Neurológica ( ) Ortoédica ( ) Trauma ( ) Vascular ( ) Desconhecida	<u>GVHD</u> ( ) não TCTH ( ) aguda grau I ( ) Aguda grau II ( ) Aguda grau III ( ) Aguda grau IV ( ) aguda grau desconhecida ( ) crônica limitada ( ) crônica extensiva ( ) crônica desconhecida

Fatores de Risco	VM ( ) Sim ( ) Não  APACHE : ____ ao entrar na UTI KARNOTSKI : ____	Diálise ( ) Sim ( ) Não ( ) Hemodiálise ( ) Peritoneal ( ) Desconhecido ( ) Hemofiltração ____ dias
( ) NPT ____ Dias de NPT  Febre: ( ) Sim ( ) Não DVA ( ) Sim ( ) Não	Neutropenia ( ) Sim ( ) Não Profunda ( ) Sim ( ) Não ( ) <100 neutrófilos ( ) > 100 neutrófilos ( ) < 500 neutrófilos ( ) > 500 neutrófilos	Informações de prematuridade: ____idade gestacional ____Peso ao nascer ( ) Apgar 1 ( ) Apgar 2

Informações do cateter	Local: ( ) CVC jugular ( ) subclávia ( ) femoral ( ) PICC ( ) CVC tunelizado ( ) arterial ( ) umbilical ( ) desconhecido ( ) outros	O cateter foi removido devido à candidemia ( ) Sim ( ) Não
Hemocultura foi coletada pelo cateter?	Tem cultura da ponta do cateter ( ) Sim ( ) positiva ( ) negativa ( ) Não	Se positiva, qual espécie? _____

( ) Sim ( ) Não		
-----------------	--	--

História Medicamentosa (14 dias antes da candidemia):

Antibióticos: ( ) Desconhecido ( ) Sim ( ) Não Quantos? ( ) 1-2 ( ) 3-4 ( ) 5-6 ( ) >7	Corticosteróides: ( ) Sim ( ) Não	Drogas imunossupressoras: ( ) Sim ( ) Não
Quimioterapia: ( ) Sim ( ) Não	Antirretroviral : ( ) Sim ( ) Não	Bloqueadores H2: ( ) Sim ( ) Não
Antifúngico prévio: ( ) Sim ( ) Não	Motivo uso antifúngico: ( ) profilático ou empírico ( ) tratamento de outras IF ( ) Desconhecido	Qual antifúngico? <hr/> Data início _____ Data término _____

Tratamento da Candidemia

Início <hr/> Data última dose <hr/>	Informar antifúngico(s) utilizado, dose e duração.
---	--

Exames Complementares:

Ultrassonografia: ( ) Não ( ) Sim Laudo:	TC abdome: ( ) Não ( ) Sim Laudo:	Biópsia pele: ( ) Não ( ) Sim Resultado:
Ecocardiografia: ( ) Não ( ) Sim Laudo:	Fundoscopia: ( ) Não ( ) Sim Laudo:	

Laudo imagem simplificado.

### ANEXO III – METODOLOGIA PARA IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR

#### a) Extração do DNA genômico dos isolados de *Candida* spp:

A extração de DNA total foi realizada pelo Kit *PREPMan Ultra Sample Preparation Reagent* (Thermo Fischer Scientific – EUA), de acordo com as instruções do fabricante. Uma colônia isolada de cada amostra foi semeada em 3 mL YEPD e incubada *overnight* à 37°C sob agitação (180 rpm) para crescimento do fungo. Após este período, uma alíquota de 1 mL da cultura foi centrifugada em velocidade máxima por 2 minutos. O sobrenadante foi descartado e as células lavadas com 1 mL de água Milli-Q ultrapura (Millipore Corporation – Brasil), por três vezes, intercaladas por novas centrifugações nas mesmas condições. O *pellet* de células foi então ressuspensionado em 100 µL do reagente de extração, homogeneizado em vórtex por 30 segundos e incubado em banho seco à 100°C por 10 minutos e posterior incubação em temperatura ambiente por 2 minutos.

Após nova centrifugação do material, 50 µL do sobrenadante foi recolhido. O material foi acondicionado a 4°C para posterior quantificação de DNA e para ensaios de PCR (Polymerase Chain Reaction).

#### b) Quantificação e análise da pureza do DNA total dos isolados de *Candida* spp.

A quantificação e análise de pureza do DNA total dos isolados de *Candida* sp. foi realizada no Nanovue™ Plus Spectrophotometer (GE Healthcare Life Science - EUA).

A presença de proteínas e sal foi medida em absorbâncias com comprimento de onda de 280nm e 230nm, respectivamente. A razão entre as leituras  $DO_{260}/DO_{280}$  e  $DO_{260}/DO_{230}$  foi indicativa da pureza do DNA, onde valores entre 1,80 e 2,0 indicam pouca quantidade dos interferentes salinos e/ou proteícos.

Após a quantificação, a concentração do DNA total foi ajustada em 40 ng/µL ser usada na amplificação de ITS rDNA.

#### c) Amplificação da região ITS do rDNA dos isolados por PCR dos isolados de *Candida* spp.

Para a amplificação da região ITS1 do rDNA foi utilizada a técnica de PCR, conforme sugerido por Irinyi e colaboradores (2015).

Na reação foram utilizados 2 µL dos *primers* **Foward** V9G-F (5'–TACGTCCCTGCCCTTTGTA–3') e **Reverse** LS266-R (5'–GCATTCCCAAACAACCTCGACTC – 3'), em concentrações de 10 pmol/µL, 2 µL do DNA diluído na concentração de 40 ng/µL, 6,5 µL de água Milli-Q estéril e 12,5 µL PCR Master Mix 2X (Promega - EUA) que é um mix pronto contendo os reagentes para PCR (50 unidades/mL de Taq polimerase, 3mM de cloreto de magnésio, 400 µM de deoxinucleotídeos dATP, dGTP, dCTP e dTTP).

Os ciclos empregados em termociclador Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems® - EUA) compreenderam as etapas de desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 1 minuto, hibridação a 56°C por 1 minuto, extensão a 72°C por 2 minutos e extensão final a 72°C por 10 minutos. Com o término da reação, os amplicons foram estocados em freezer em temperatura de -20°C.

d) Eletroforese em gel de agarose dos isolados de *Candida* spp.

A análise do produto da PCR foi realizada por eletroforese em gel de agarose 1% (Ultra Pure Agarose - Invitrogen - EUA) corado com SYBR Safe DNA Gel Stain (Thermo Fischer Scientific - EUA), em tampão de corrida TAE 1X [Tris-acetato–EDTA (*Ethilenediamine tetraacetic acid*)], por 50 minutos a 90 Volts e 400 mA. Para observação da migração dos fragmentos de DNA foi utilizado 2 µL do corante Orange G. A fotorrevelação do gel ocorreu com uso do transluminador UV MiniBis Pro e do *software* GelQuant (DNR Bio-Imaging Systems - Israel), e a estimativa do tamanho do *amplicon* foi realizada em comparação ao marcador de peso molecular 100pb DNA *Ladder* (Thermo Fischer Scientific – EUA).

e) Sequenciamento da região ITS do rDNA dos isolados de *Candida* spp.

Os isolados foram sequenciados pelo método de terminação da cadeia por dideoxinucleotídeos proposto por Sanger (1992). Para o mix de reação foram utilizados 3 µL de água, 1 µL do *primer* V9G-F; 1 µL do *primer* LS266-R com concentração de 2 pmol/µL; 2 µL do tampão de sequenciamento e 2 µL de Big Dye

terminator kit (Thermo Fischer Scientific - EUA®). A este mix, 2 µL do fragmento amplificado por PCR foi adicionado. O ciclo de amplificação utilizado para esta etapa compreendeu a desnaturação a 96°C por 10 segundos, hibridização a 50°C por 15 segundos e extensão a 60°C por 4 minutos repetidos por 25 vezes no termociclador Veriti 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems® - EUA).

Após a amplificação do fragmento, a precipitação do DNA foi realizada utilizando: 2 µL de acetato de sódio 3M, 2 µL de EDTA 125mM e 55 µL etanol absoluto, seguido de incubação da placa por 15 minutos, protegida da luz e em temperatura ambiente. Centrifugação de 3700 rpm à 20°C por 35 minutos foi realizada e o sobrenadante foi desprezado por inversão da placa. Rápida centrifugação (*spin down*) a 1000 rpm com a placa invertida e apoiada sobre papel absorvente foi realizada para eliminação total de resíduos não incorporados a reação. A cada poço foram adicionados 75 µL de etanol 80% e a placa foi novamente centrifugada por 15 minutos a 4.000 rpm. Novamente o sobrenadante foi desprezado por inversão seguido de *spin down* a 1000 rpm com a placa invertida. Incubação a 95°C por 4 minutos em termociclador foi realizada para a evaporação total dos líquidos remanescentes.

A desnaturação do DNA foi realizada com 15 µL de formamida Hi-Di™ (Applied Biosystems® - EUA) seguida de nova incubação a 95°C por 4 minutos. O sequenciador ABI3100 (Applied Biosystems® - EUA) foi utilizado para o sequenciamento.

- f) Edição das sequências e comparação do consenso em banco genômico dos isolados de *Candida* spp:

Para a identificação de cada isolado, foram utilizados de dois a quatro *reads* na dependência da consistência obtida na análise dos resultados.

Os cromatogramas gerados foram analisados nos programas Sequencher 4.1. As sequências geradas foram então comparadas com as sequências depositadas no banco genômico NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), utilizando a ferramenta BLASTn (*Nucleotide Basic Local Alignment Search Tool*), dando ênfase a busca de informações geradas por centros referência em pesquisa com *Candida*

spp. A identificação da espécie foi reconhecida quando as sequências comparadas possuíam identidade e cobertura  $\geq 98\%$  e *e-value*  $< 10^{-5}$ .

g) Extração de proteínas por ácido fórmico dos isolados de *Candida* spp.

A extração proteica foi realizada por ácido fórmico a 25%. Os isolados foram cultivados em meio SDA por 24h a 37°C. Após seu crescimento, foram adicionados em um *ependorf* o equivalente a  $10^6$  células em 7µL de ácido fórmico a 25% homogeneizados em *vortex* por aproximadamente 20 segundos. Após a extração, 1µL extrato proteico foi imediatamente transferido para a placa de leitura (Bruker Daltonics – EUA). Após secagem parcial, 1µl da solução matriz (10 mg / mL de ácido *alfa-ciano*-4-hidroxicinâmico em etanol: água: acetonitrila [1:1:1]) (Sigma – EUA), com 0,03% de TFA (ácido trifluoroacético), foi adicionado em cada poço e levemente homogeneizados. A etapa de cristalização foi realizada em temperatura ambiente.

h) Aquisição do perfil dos isolados de *Candida* spp. MALDI-TOF MS

A aquisição dos perfis proteicos dos isolados clínicos foi realizada em espectrômetro de massas Microflex LT, utilizando o FlexControl software (versão 3.0, Bruker Daltonics) no Departamento de Biofísica da UNIFESP/EPM.

A leitura das massas foi realizada considerando um intervalo de 2.000 20.000Da obtidos em modo linear com 40 disparos de laser UV com uma velocidade de repetição de 20 Hz por poço.

A calibração do aparelho foi realizada utilizando seis proteínas ribossomais de *Escherichia coli*: 3637.8; 5096.80; 5381.40; 6255.40; 7274.50 e 10300.10Da. A geração dos perfis proteicos foi realizada pelo *software* FlexControl 3.0 (Bruker Daltonics, EUA).